

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES  
ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Filogeografía comparada de dos especies simpátricas de *Anolis* (Squamata: Iguanidae) y evaluación del impacto del calentamiento global sobre su distribución

Disertación previa a la obtención del título de Licenciada en Ciencias Biológicas

DIANA CAROLINA TROYA RODRÍGUEZ.

Quito, 2013

## **CERTIFICACIÓN**

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Biológicas de la candidata Diana Carolina Troya Rodríguez ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Dr. Omar Torres Carvajal

Director de la Disertación

Marzo del 2013

A mis padres, hermana y a Lucas por su apoyo incondicional durante esta  
etapa de mi vida.

## **AGRADECIMIENTOS**

La realización de este proyecto tuvo el apoyo principal de Omar Torres Carvajal, director de esta disertación, y Fernando Ayala Varela que aportaron con su amplio conocimiento y valiosos consejos para que este trabajo esté completo. Agradezco el apoyo del personal del QCAZ, por sus consejos y apertura para solucionar mis dudas. De igual forma, mi agradecimiento al proyecto “Inventario y caracterización genética y morfológica de la diversidad de los anfibios, reptiles y aves de los Andes del Ecuador” auspiciado por la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia y Tecnología (PIC- 08-0000470), que aportó con el financiamiento al presente trabajo.

Gracias a Eduardo Toral, Vanesa Aguirre y Andrés Mármol por el esfuerzo y compromiso al momento de buscar los especímenes en el campo hasta altas horas de la noche. En el trabajo de laboratorio debo agradecer a Charlie Barnes, María José Pozo y Gabriela Nicholls por su acertada guía.

Un agradecimiento especial a Francy Mora y Pablo Menéndez por compartir desinteresada e incondicionalmente su saber, además de su paciencia en todas las etapas del presente proyecto. También agradezco a Tropical Herping, por el aporte valioso de su conocimiento y registros utilizados en el proyecto.

A mi familia por el incentivo, preocupación y fuerza en todo este proceso y a lo largo de toda mi vida: esta meta alcanzada se la debo a ustedes. A Lucas y mis amigos Jorge, Noe, Majo y Pablo por el apoyo constante e incondicional durante toda mi carrera, por sus consejos y valiosos aportes para este proyecto.

## TABLA DE CONTENIDOS

<b>1. RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. ABSTRACT.....</b>	<b>3</b>
<b>3. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>5</b>
<b>3.1. ANDES DEL NORTE .....</b>	<b>6</b>
3.1.1. CAMBIO CLIMÁTICO EN LOS ANDES DEL NORTE.....	8
<b>3.2. OBJETO DE ESTUDIO .....</b>	<b>9</b>
<b>3.3. ESTUDIOS ANTERIORES .....</b>	<b>11</b>
<b>3.4. OBJETIVOS .....</b>	<b>12</b>
3.4.1. OBJETIVO GENERAL.....	12
3.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICO .....	12
<b>4. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>14</b>
<b>4.1. ESPECÍMENES UTILIZADOS .....</b>	<b>14</b>
<b>4.2. EXTRACCIÓN, AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIACIÓN DEL</b>	
<b>ADN .....</b>	<b>14</b>
<b>4.3. ALINEAMIENTO Y ANÁLISIS DE LAS SECUENCIAS DE ADN.....</b>	<b>15</b>
4.3.1. MÁXIMA VEROSIMILITUD (MV) .....	16

4.3.2. INFERENCIA BAYESIANA .....	17
4.3.3. TIEMPO DE DIVERGENCIA .....	18
4.4. <b>DIVERSIDAD GENÉTICA</b> .....	20
4.4.1. POLIMORFISMO Y DISTANCIAS GENÉTICAS .....	20
4.4.2. RED DE HAPLOTIPOS .....	21
4.5. <b>MODELAMIENTO DE NICHOS PRESENTE Y FUTURO</b> .....	22
5. <b>RESULTADOS</b> .....	25
5.1. <b>RELACIONES FILOGENÉTICAS</b> .....	25
5.2. <b>TIEMPO DE DIVERGENCIA</b> .....	26
5.3. <b>POLIMORFISMO GENÉTICO Y DISTANCIAS GENÉTICAS</b> .....	27
5.4. <b>RED DE HAPLOTIPOS</b> .....	28
5.3. <b>MODELAMIENTO DE NICHOS PRESENTE Y FUTURO</b> .....	28
6. <b>DISCUSIÓN</b> .....	31
6.1. <b>FILOGEOGRAFÍA DE <i>ANOLIS GEMMOSUS</i> Y <i>ANOLIS</i></b> <b><i>AEQUATORIALIS</i></b> .....	31
6.2. <b>TIEMPOS DE DIVERGENCIA</b> .....	35
6.3. <b>CAMBIO CLIMÁTICO Y DISTRIBUCIÓN</b> .....	36

7. CONCLUSIONES.....	39
8. RECOMENDACIONES.....	40
9. BIBLIOGRAFÍA.....	41
10. FIGURAS.....	56
11. TABLAS.....	69
12. ANEXOS.....	77



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.-</b> Mapa de localidades de los individuos de <i>Anolis aequatorialis</i> utilizados para los análisis filogenéticos y cronofilogenéticos.....	56
<b>Figura 2.-</b> Mapa de localidades de los individuos de <i>Anolis gemmosus</i> utilizados para los análisis filogenéticos y cronofilogenéticos.....	57
<b>Figura 3.-</b> Árbol filogenético bajo criterio de Inferencia Bayesiana .....	58
<b>Figura 4.-</b> Árbol consenso del análisis de Inferencia Bayesiana .....	59
<b>Figura 5.-</b> Filograma del análisis de Máxima Verosimilitud.....	60
<b>Figura 6.-</b> Filograma de análisis de tiempo de divergencia relativo (sin tiempo de calibración) .....	61
<b>Figura 7.-</b> Filograma de análisis de tiempo de divergencia con la tasa de evolución del fragmento mitocondrial igual a 1,3% de cambios / millón de años .....	62
<b>Figura 8.-</b> Red de haplotipos de <i>Anolis aequatorialis</i> .....	63
<b>Figura 9.-</b> Red de haplotipos de <i>Anolis gemmosus</i> .....	64
<b>Figura 10.-</b> Mapas del modelamiento predictivo de hábitat al presente.....	65
<b>Figura 11.-</b> Mapas del modelamiento predictivo de hábitat al año 2050 .....	66
<b>Figura 12.-</b> Mapa de <i>Anolis aequatorialis</i> con el modelo presente y futuro .....	67
<b>Figura 13.-</b> Mapa de <i>Anolis gemmosus</i> con el modelo presente y futuro.....	68

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.-</b> Regiones de ADN y cebadores utilizados en este estudio .....	69
<b>Tabla 2.-</b> Estrategias de partición del fragmento de ADN (ND2 y tRNAs) utilizadas en los análisis y modelos de evolución respectivos .....	70
<b>Tabla 3.-</b> Variables climáticas obtenidas de Worldclim.....	71
<b>Tabla 4.-</b> Estimación del factor bayesiano de las estrategias de partición .....	72
<b>Tabla 5.-</b> Resultado del AMOVA para las poblaciones de <i>Anolis aequatorialis</i> .....	73
<b>Tabla 6.-</b> Resultado del AMOVA para las poblaciones de <i>Anolis gemmosus</i> .....	74
<b>Tabla 7.-</b> Distancias genéticas de las poblaciones de <i>Anolis gemmosus</i> , estimadas en base al gen ND2 .....	75
<b>Tabla 8.-</b> Distancias genéticas de las poblaciones de <i>Anolis aequatorialis</i> , estimadas en base al gen ND2.....	76



## 1. RESUMEN

El género neotropical de lagartijas *Anolis* es uno de los grupos de vertebrados terrestres con más especies en el planeta. Con cerca de 400 especies descritas, es además un grupo biogeográficamente complejo y ecológicamente muy diverso. El género *Anolis* ha sido ampliamente estudiado en el Caribe ya que representa un modelo para estudios de radiación adaptativa; sin embargo, en Sudamérica los estudios son escasos. Aquí se presenta la reconstrucción de la historia evolutiva mediante análisis filogenéticos y filogeográficos de dos especies simpátricas de *Anolis* de las estribaciones occidentales de la Cordillera de los Andes del Ecuador: *A. gemmosus* y *A. aequatorialis*, así como un análisis de modelamiento de nicho para comparar su patrón de distribución presente y futuro.

La reconstrucción filogenética y filogeográfica en base al análisis de secuencias del gen mitocondrial ND2 y seis ARNt (~1700 pb) se llevó a cabo bajo criterios de máxima verosimilitud, inferencia bayesiana y red de haplotipos de máxima parsimonia. Para el modelamiento de nicho se utilizó un método correlativo basado en Máxima Entropía para modelar el nicho ecológico en el presente y para el año 2050.

Los análisis filogenéticos y filogeográficos muestran que ambas especies tienen poblaciones geográficamente concordantes a pesar de que la divergencia de las poblaciones *A. aequatorialis* es anterior a la divergencia de las poblaciones de *A. gemmosus*. Se sugiere que en ambas especies, similares en morfología y ecología, las mismas barreras geográficas han limitado el flujo génico entre sus poblaciones, a pesar de que los tiempos de colonización parecen ser distintos para cada especie.

El modelamiento de nicho de estas dos especies muestra que son ambientalmente muy similares y el modelo para el año 2050 predice un ligero ascenso a zonas más altas en su distribución. También se observa que el rango de distribución de estas especies es muy amplio y para el año 2050 el área predicha de distribución no se va a restringir de manera considerable.

**Palabras clave:** Filogeografía, *Anolis*, modelamiento de nicho, Cordillera de los Andes Norte, tiempos de divergencia.

## 2. ABSTRACT

With nearly 400 described species, the Neotropical genus *Anolis* is one of the most diverse, biogeographically complex, and ecologically diverse terrestrial vertebrate groups on the planet. The genus has been extensively studied in Caribbean region as it represents a model for adaptive radiation, but studies in South America are scarce. To fill this gap, we present the evolutionary history and phylogeographic reconstruction of two sympatric *Anolis* species of the western foothills of Ecuadorian Andes: *A. gemmosus* and *A. aequatorialis*. Additionally, we present the results of niche modeling analyses to compare their actual and future distribution pattern.

The phylogenetic relationships and phylogeographic reconstruction were based on sequence analysis of mitochondrial gene ND2 and six tRNA (~ 1700 bp), and was carried out under the criteria of maximum likelihood and Bayesian inference (haplotype maximum parsimony network). To produce niche models, was used a correlative method based on Maximum Entropy to estimate the ecological niche in the present and in 2050.

Phylogenetic and phylogeographic analyzes show that both species have geographically coherent populations, although the ecological radiation of *A. aequatorialis* predates the radiation of *A. gemmosus*. We suggest that both species, which are similar in morphology and ecology, are constrained by the same geographic barriers, although colonization events appear to be species-specific.

The niche modeling shows that these two species are very similar environmentally and 2050 model predicts a slight climb to higher ground in distribution. It is also observed that the distribution range of these species is very wide and 2050 predicted distribution area will not

significantly restrict.

**Keywords:** Phylogeography, *Anolis*, niche modeling, Northern Andes, divergence times.

### 3. INTRODUCCIÓN

La filogeografía estudia los principios y procesos que gobiernan la distribución geográfica de linajes genealógicos, enfatiza los aspectos históricos de la distribución geográfica contemporánea de dichos linajes (Avise, 1998) y es crucial para entender la variación de los organismos (Campbell-Staton *et al.*, 2012).

Esta disciplina integrativa fue anunciada como un puente de unión entre los estudios macro y micro evolutivos, por sus profundas bases en biogeografía y genética de poblaciones (Bermingham y Martin, 1998). Se fundamenta en análisis del ADN mitocondrial (ADNmt) ya que este permite seguir rastros genealógicos a través de las fronteras genéticas entre poblaciones (Bermingham y Martin, 1998). El ADNmt es utilizado en más del 70% de los análisis filogeográficos y tiene un valor especial como marcador filogenético microevolutivo debido a su herencia maternal típicamente sin recombinación genética, rápida evolución a nivel de secuencias nucleotídicas y gran polimorfismo intraespecífico (Avise, 2000).

Los estudios filogeográficos intraespecíficos buscan concordancias geográficas entre especies en la distribución de los linajes dentro de cada especie, lo que indicaría la influencia de un factor histórico común. Estos análisis han sido posibles gracias al desarrollo de métodos moleculares que nos permiten investigar la variación geográfica usando marcadores moleculares y deducir estructuras filogeográficas intraespecíficas (Taberlet *et al.*, 1998).

En Sudamérica, la Cordillera de los Andes ofrece un rico laboratorio natural para el estudio de la biogeografía, variación geográfica y especiación. El levantamiento de los Andes jugó un papel importante en la diversificación de los organismos Neotropicales, tanto por el aislamiento de los organismos en ambos lados de las montañas, como por la producción de un



mosaico de hábitats montanos y valles interandinos, en los que habría una potencial colonización y diferenciación (Brumfield y Edwards, 2007).

El levantamiento de los Andes en el Neógeno ha tenido un profundo impacto en la historia del continente sudamericano. Cambió el curso del sistema del Amazonas hacia el Atlántico y afectó el clima de la región mediante la formación de la única barrera a la circulación atmosférica en el Hemisferio Sur (Antonelli *et al.*, 2009).

En trabajos anteriores la gran diversidad de herpetofauna de los Andes ha sido agrupada en 27 zonas fisiográficas divididas en 6 unidades; (1) Andes de Venezuela, (2) Sierra Nevada de Santa Marta, (3) Andes del Norte, (4) Depresión de Huancabamba, (5) Andes Centrales y (6) Andes del Sur (Duellman, 1979). El presente estudio filogeográfico de lagartijas del género *Anolis* se realizó en la zona de los Andes Occidentales del Ecuador que forma parte de la división Andes del Norte.

### **3.1. ANDES DEL NORTE**

Los Andes del Norte o Andes tropicales son un escenario ideal para ejecutar estudios de filogeografía, forman parte de una cordillera joven que alcanzó su elevación actual dentro de los últimos cinco millones de años (Gregory-Wodzicki, 2000), lo cual facilita rastrear la historia de los linajes genéticos.

Los Andes del Norte abarcan 1800 km de largo desde las zonas bajas del Caribe hasta la Depresión de Huancabamba y poseen la mayor riqueza de herpetofauna; aquí se encuentra el 57% de las especies de la zona andina con un endemismo del 83% (Duellman, 1979).

La alta diversidad de los Andes tropicales puede atribuirse al bajo rango de tolerancia térmica de las especies tropicales (no hay estacionalidad) y a la mayor estratificación climática de las montañas tropicales, que crean mayores oportunidades de especiación parapátrica o alopátrica asociadas al clima (Cadena *et al.*, 2012). En el Ecuador los Andes se dividen en Cordillera Occidental, Cordillera Oriental y Valles Interandinos.

La Cordillera Occidental diverge al norte a partir del Nudo de Pasto, y se extiende 500 km al sur. El levantamiento de la ladera Occidental de la cordillera empezó en el Plioceno (~5.3 Ma. atrás) y terminó su levantamiento después del último glacial máximo (~20.000 años atrás), por tanto la cordillera Occidental de los Andes en el Ecuador es más reciente que la cordillera Oriental que terminó su levantamiento a finales del Plioceno (Duellman, 1979).

La Cordillera Occidental del Ecuador se divide en tres regiones: (1) desde el norte del Río Chota hasta el Nudo de Pasto, (2) del sur del valle seco del Chota al valle seco del Río Jubones (3) desde el sur de Río Jubones hasta el norte del Perú (Lynch y Duellman, 1997).

El clima en la zona occidental del Ecuador está altamente influenciado por dos corrientes oceánicas, la corriente fría de Humboldt y la corriente cálida del Niño (Lynch y Duellman, 1997). Los vientos húmedos provenientes del mar se condensan sobre las tierras bajas y esta masa de aire continúa hasta los Andes generando precipitaciones (Lynch y Duellman, 1997; Garreaud, 2009). Por lo tanto, la diversidad de los Andes Occidentales se ha visto influenciada por factores históricos, climáticos, bióticos y abióticos. Además las condiciones de las tierras adyacentes son muy importantes para determinar la diversidad en los Andes Tropicales (Bent y Neils, 1998), por ejemplo los numerosos valles y ríos que pueden actuar como barreras de dispersión.

### 3.1.1. CAMBIO CLIMÁTICO EN LOS ANDES DEL NORTE

En la actualidad el clima está experimentando cambios cada vez más radicales debido al calentamiento del planeta. El cambio climático afecta y causa cambios en la distribución (e.g., límites altitudinales), diversidad y abundancia de los organismos como anfibios, reptiles y aves (Pounds *et al.*, 1999; Seimon *et al.*, 2007). Se atribuye gran parte de este cambio al aumento de la temperatura de la superficie del océano, que a su vez altera el clima en la zona montañosa tropical (Pounds *et al.*, 1999). El modelamiento de nicho se ha convertido en un método muy útil para entender y analizar el efecto del clima en la distribución de las especies, permitiendo poner a prueba hipótesis ecológicas sobre la distribución de los organismos (Guisan y Hofer, 2003). Por ejemplo, se puede predecir la magnitud y la dirección del cambio de distribución en relación a diferentes escenarios de calentamiento global (Araújo *et al.*, 2006).

En los Andes Tropicales se proyecta un aumento de temperatura de 4,5–5 °C a finales de este siglo, con lo cual se darán cambios heterogéneos en los regímenes de precipitación, que incrementarán la frecuencia de eventos extremos (Báez *et al.*, 2011). Los modelos predictivos para el año 2090 demuestran que el aumento de temperatura será más drástico en las zonas montañosas de Ecuador, Perú y Bolivia (Rabatel *et al.*, 2013). Consecuentemente la biodiversidad de los Andes Tropicales será afectada por tales alteraciones climáticas (Báez *et al.*, 2011). Las especies de los Andes Tropicales podrían verse especialmente afectadas por los cambios en el clima debido a su historia evolutiva reciente, su alta especialización ecológica y climática, y a que tienden a estar en densidades poblacionales bajas (Báez *et al.*, 2011).

En el Ecuador, estudios basados en fotografía satelital muestran que la superficie de los glaciares en el volcán Chimborazo han disminuido un 57% (1,6% por año) durante el período

1962–1997, y en los volcanes Cotopaxi y Antisana la pérdida de superficie fue del 37% y el 33%, respectivamente, para el período 1979–2007 (Rabatel *et al.*, 2013). En las zonas de bosques montanos del Ecuador (entre 2000 y 3000 msnm) también se han registrado disminuciones en la precipitación promedio anual en la década de 1980 y 1990, e incrementos en la temperatura media anual que varían entre 0,6 y 1,9°C al comparar la década de 1990 con la de 1960 (Merino-Viteri *et al.*, 2005).

En la región de los Andes Tropicales el impacto del cambio climático se resume en disminuciones en la densidad poblacional, extinciones locales de especies, y aumento en la tasa de contagio de enfermedades (Báez *et al.*, 2011). Por lo tanto es importante realizar más estudios que generen más información del cambio climático en la región.

### **3.2. OBJETO DE ESTUDIO**

Las lagartijas son organismos modelo para estudios ecológicos y evolutivos, ya sea a nivel de individuo o comunidad, en múltiples escalas temporales y espaciales. Esto se debe a la amplia distribución geográfica, gran diversidad de hábitats, y amplio rango de morfología y tamaño de algunas especies (Camargo *et al.*, 2010).

El género neotropical de lagartijas *Anolis* es uno de los grupos de vertebrados terrestres más diverso, con cerca de 400 especies descritas (Ayala-Varela y Torres-Carvajal, 2010; Nicholson *et al.*, 2012), además es un grupo biogeográficamente complejo y ecológicamente muy diverso (Poe, 2004). En Ecuador se encuentran 37 especies distribuidas en la zona tropical, subtropical y templada del oriente y occidente (Torres-Carvajal, 2011; Torres-Carvajal y Salazar-Valenzuela, 2013).

En la región del Caribe, *Anolis* es un grupo ampliamente conocido y estudiado, porque representa un modelo para estudios de radiación adaptativa (Losos, 2009). En Sudamérica

ocurre lo contrario, este grupo ha sido poco estudiado, lo cual se refleja en los hallazgos de varias especies nuevas en los últimos años (Poe *et al.*, 2009; Ayala-Varela y Torres-Carvajal, 2010; Ayala-Varela y Velasco, 2010). Consecuentemente, las relaciones filogenéticas y filogeográficas de las especies de *Anolis* de Sudamérica son poco conocidas.

El presente estudio está enfocado en comparar la filogeografía y los modelos de distribución de dos especies de lagartijas del género *Anolis*: *A. gemmosus* O'Shaughnessy, 1875 y *A. aequatorialis* Werner, 1894. Estas especies son simpátricas en la mayor parte de su distribución y según el estudio filogenético llevado a cabo por Castañeda y de Queiroz (2011) *A. gemmosus* y *A. aequatorialis* son especies cercanamente emparentadas, que están dentro del clado Dactyloa del oeste, junto con *A. anuoriensis*, *A. ventrimaculatus*, *A. festae*, *A. chloris* y *A. peraccae*.

Ambas especies habitan en las estribaciones occidentales de los Andes Tropicales: en la zona subtropical y templada del suroeste de Colombia (departamento de Nariño) y en la región occidental del Ecuador (provincias de Carchi, Imbabura, Santo Domingo de los Tsáchilas, Pichincha, Cotopaxi y Bolívar) entre los 1000 y 2300 msnm (Ayala-Varela y Carvajal-Campos, 2010; Ayala-Varela *et al.*, 2011).

Son especies abundantes que ocupan ecosistemas boscosos húmedos y sombreados, están activas durante el día y son animales insectívoros que no forrajeen. *A. gemmosus* está activa a temperaturas de 16–20,4 °C en ramas de 30–700 cm sobre el suelo, mientras que *A. aequatorialis* está activa a temperaturas de 18,5–22 °C en vegetación de 50–350 cm sobre el suelo (Arteaga. 2012; Bustamante-Enríquez y Arteaga. 2012).

### 3.1. TRABAJOS ANTERIORES

En los últimos años, varios estudios de filogeografía de las lagartijas del género *Anolis* se han llevado a cabo y han revelado altos niveles de divergencia entre poblaciones en especies con amplia distribución, la mayoría de estos trabajos son realizados con especies del género *Anolis* en el Caribe; en las islas de las Antillas Mayores (Jackman *et al.*, 2002; Glor *et al.*, 2003, 2004, 2005; Kolbe *et al.*, 2004; Rodríguez-Robles *et al.*, 2007; Campbell-Staton *et al.*, 2012) y en las Antillas Menores (Malhotra y Thorpe, 2000; Ogden y Thorpe, 2002; Thorpe *et al.*, 2005). Esto contrasta con los pocos estudios de este tipo realizados en Sudamérica. No se tiene datos de trabajos realizados con lagartijas *Anolis* en las estribaciones de los Andes Tropicales, la mayoría de trabajos han sido realizados en la cuenca Amazónica.

Glor *et al.* (2001) presentan una filogenia basada en ADN mitocondrial de las especies amazónicas *A. fuscoauratus*, *A. nitens*, *A. ortonii* y *A. punctatus*, y rechazan la hipótesis de que las especies amazónicas de *Anolis* son un grupo monofilético excluyendo las especies del Caribe y Centroamérica, sugiriendo múltiples intercambios faunísticos entre estas regiones. Además la divergencia haplotípica entre las poblaciones de *A. nitens*, cuya variación fue influyente en la formulación de la hipótesis de los refugios del Pleistoceno, es muy grande (13–22% de diferencia de secuencia), lo que sugiere que estas poblaciones se separaron mucho antes del Pleistoceno. La divergencia haplotípica entre las poblaciones de *A. fuscoauratus* (3–4%), *A. punctatus* (4–9%) y *A. ortonii* (6–8%) también indican diferenciación pre-Pleistoceno dentro de cada especie. Finalmente se sugiere un patrón temporalmente incongruente de divergencia entre especies.

D'angiolella *et al.* (2011) trabajaron con el grupo de especies *Anolis chrysolepis*, distribuido por toda la cuenca del Amazonas, compuesto por *A. bombiceps* y cinco subespecies de *A. chrysolepis* para estimar las relaciones filogenéticas entre las subespecies

del grupo *A. chrysolepis* y taxones cercanos. En ese estudio se analizó la congruencia entre datos moleculares y morfológicos para evaluar el estado taxonómico de los miembros del grupo, y como resultado se elevó taxonómicamente cada subespecie de *A. chrysolepis* a la condición de especie.

En cuanto al modelamiento predictivo de nicho, a pesar de ser una herramienta bastante utilizada para evaluar hipótesis ecológicas acerca de la distribución de los organismos, se ha visto que son muy pocos los trabajos realizados en la predicción de distribución de reptiles en el mundo (Owen, 1989; Guisan y Hofer 2003; Araújo *et al.* 2006, 2008, Rissler *et al.* 2006), y menos si hablamos de la región de los Andes Tropicales en Sudamérica (Báez *et al.*, 2011).

Es por esto que el presente trabajo será un aporte al estudio de las lagartijas del género *Anolis* en el trópico, reportando información sobre patrones de distribución y el posible efecto del cambio climático.

### 3.4. OBJETIVOS

Objetivo general:

- Reconstruir la historia evolutiva de *Anolis gemmosus* y *Anolis aequatorialis* en base al análisis de secuencias de ADN en espacio y tiempo, y comparar su patrón de distribución presente y futuro.

Objetivos específicos:

- Establecer la relación entre la distribución actual de los haplotipos de *Anolis gemmosus* y *A. aequatorialis* con su filogenia.

- Comparar los patrones filogeográficos inferidos en ambas especies, para determinar diferencias y semejanzas en los patrones de distribución actuales.
- Estimar el tiempo de divergencia relativo para *Anolis gemmosus* y *Anolis aequatorialis*, realizando un análisis cronofilogenético y analizar posibles eventos históricos de divergencia.
- Obtener el modelo predictivo de nicho de ambas especies al presente y futuro para comparar las distribuciones y determinar la magnitud y dirección del cambio de sus rangos de distribución debido a los patrones de calentamiento global establecidos por los modelos.



## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. ESPECÍMENES UTILIZADOS

En este proyecto se utilizaron tejidos de individuos de *Anolis gemmosus* y *A. aequatorialis* depositados en el Museo de Zoología de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (QCAZ) provenientes de las provincias de Carchi, Santo Domingo de los Tsáchilas, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi y Bolívar.

Adicionalmente se colectaron individuos en salidas de campo a las provincias de Bolívar e Imbabura. Se tomaron muestras de tejido de músculo e hígado, que fueron almacenadas en etanol al 95% siguiendo el protocolo estandarizado del Laboratorio Molecular de Herpetología. Los especímenes fueron fijados con formol al 10% y depositados en etanol al 75% en el QCAZ.

Para los análisis se utilizaron 69 individuos (29 individuos de *A. aequatorialis* y 40 individuos de *A. gemmosus*), registrados en varias localidades a lo largo de toda su distribución (Anexo 1). Para *A. aequatorialis* se utilizaron 11 localidades (Fig. 1) y para *A. gemmosus* 14 localidades (Fig. 2).

### 4.2. EXTRACCION, AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIACIÓN

El ADN fue extraído a partir de tejidos de hígado y músculo (almacenados en etanol al 95% a -80 °C) del QCAZ. Se empleó el protocolo de fenol-cloroformo de M. Fujita (no publicado) con modificaciones realizadas por el personal del laboratorio de Biología Molecular de la sección de herpetología del QCAZ (Anexo 2).

A partir del ADN extraído se realizó la amplificación del gen mitocondrial NADH Deshidrogenasa II (ND2), además los genes que codifican para ARNt<sup>Ile</sup>, ARNt<sup>Gln</sup>, ARNt<sup>Met</sup>,

ARNt<sup>Trp</sup>, ARNt<sup>Ala</sup>, ARNt<sup>Asn</sup>, origen de la hélice ligera (L), ARNt<sup>Cys</sup> y ARNt<sup>Tyr</sup> mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Las amplificaciones se realizaron con un volumen final de 25 µl (2.5 µl de Buffer PCR 5X, 1.5 µl de MgCl<sub>2</sub> 50mM, 0.5 µl de cada primer 10µM, 0.5 µl de dNTPs 10mM, 0.25 µl de Taq polimerasa, 1 unidad de ADN y 18.25 µl de H<sub>2</sub>O). Los cebadores empleados así como los protocolos se detallan en la (Tabla 1).

Se realizaron geles de agarosa al 1% con controles negativos para visualizar mediante electroforesis los productos de PCR. El kit de purificación ExoSap-IT (GE healthcare) se utilizó para eliminar los residuos de primer y dNTPs no incorporados. La secuenciación se llevó a cabo en la empresa Macrogen en Corea (Macrogen Inc., Seúl, Corea). Las extracciones de ADN se depositaron en el banco de genoma del Museo del QCAZ.

#### **4.3. ALINEAMIENTO Y ANÁLISIS DE LAS SECUENCIAS DE ADN**

El fragmento completo de ADN utilizado para los análisis se obtuvo a partir del ensamble de cuatro secuencias obtenidas con los cebadores derecho y reverso respectivos (Tabla 1). El ensamble de las secuencias se lo realizó en el programa Geneious Pro 5.4.6 (Drummond *et al.*, 2011) y el alineamiento se lo realizó utilizando la aplicación MAFFt Multiple Alignment (Katoh *et al.*, 2002) en Geneious Pro 5.4.6. Posteriormente las secuencias fueron ajustadas manualmente en el programa Mesquite 0.1 (Maddison y Maddison, 2010).

Los análisis filogenéticos se realizaron bajo los criterios de máxima verosimilitud MV (Felsenstein, 1985) e inferencia Bayesiana IB (Ronquist y Huelsenbeck, 2003). Como grupo externo para los análisis se utilizó a *Anolis fitchi*, distribuida en las estribaciones Orientales de los Andes y en la Cordillera del Cutucú, desde el sur de Colombia hasta la provincia de Morona Santiago en Ecuador (Ayala-Varela y Carvajal-Campos, 2010). *Anolis fitchi* está

dentro de las especies que tienen relación incierta según Castañeda y de Queiroz (2011) ya que no fue inferida una posición constante para esta especie a través de los análisis filogenéticos. El clado de *A. fitchi* junto con *A. podocarpus* es el grupo hermano del clado formado por el grupo *Dactyloa* del Oeste de los Andes con la especie *A. huilae* (Castañeda y de Queiroz, 2011).

Se utilizaron tres estrategias de partición (Tabla 2). Debido a que cada gen evoluciona bajo diferentes mecanismos éste proceso implementa modelos más complejos y reales de evolución de las secuencias de ADN, permitiendo establecer distintas tasas de sustitución de los nucleótidos (Brandley *et al.*, 2005).

Los modelos de evolución para cada partición de ADN fueron seleccionados con el programa jModelTest 0.1.1 bajo el criterio de información Akaike (AIC) (Posada, 2008) (Tabla 2), que evita algunas limitaciones de la prueba de la tasa de verosimilitud (LRT), en particular la imposibilidad de comparar modelos no anidados (Torres-Carvajal y de Queiroz, 2009).

#### **4.3.1. MÁXIMA VEROSIMILITUD (MV)**

Los algoritmos de máxima verosimilitud examinan diferentes árboles y estiman la mejor topología que se ajuste mejor a los datos observados, dado un modelo de evolución específico (Schmidt y von Haeseler, 2009). Para inferir los árboles bajo el criterio de MV se utilizó el programa GARLI 2.0 (Zwickl, 2006), se corrió un análisis para cada estrategia de partición (Tabla 2) con el modelo de evolución correspondiente.

Se realizaron diez análisis independientes buscando obtener el mejor árbol, es decir el que produzca los mayores valores de verosimilitud (Schmidt y von Haeseler, 2009), y para evaluar

el soporte nodal se utilizó la técnica de bootstrap no paramétrico (Felsenstein, 1985) realizando 100 pseudo-réplicas del set de datos, obteniendo un árbol por cada réplica. El árbol consenso fue calculado en el programa Mesquite v 2.74 (Maddison y Maddison, 2010) bajo la regla de mayoría al 50% (50% Majority–Rule Consensus) y se consideró como un clado con alto soporte aquel con un valor mayor o igual al 70% (Hillis y Bull, 1993).

#### **4.3.2. INFERENCIA BAYESISANA (IB)**

El método bayesiano es un análisis de probabilidades que se basan en un criterio de optimalidad. Es conceptualmente distinto al criterio de MV porque no busca un único mejor árbol, sino que busca las probabilidades posteriores de los árboles en base a la verosimilitud y probabilidades a priori de los parámetros del modelo (Ronquist *et al.*, 2009).

Estas probabilidades posteriores presentan una estimación confiable de las relaciones evolutivas y son obtenidas a partir de la exploración del espacio de los árboles usando la técnica de muestreo llamada Cadena de Markov Monte Carlo (MCMC), la cual genera parámetros al azar, hasta encontrar la mejor distribución probable de árboles (Ronquist *et al.*, 2009).

Para el presente análisis se utilizó el programa MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001). Se generaron tres árboles, uno con cada estrategia de partición (Tabla 2) y utilizando el modelo de evolución obtenido para cada estrategia de partición. Las búsquedas se realizaron mediante un algoritmo MCMC con los valores predeterminados de temperatura.

Para cada árbol se corrieron cuatro búsquedas bayesianas independientes (nrns = 4) usando el algoritmo de la cadena Markov de Monte Carlo, para optimizar la búsqueda se corrió el análisis con cuatro cadenas (nchains = 4), y diez millones de generaciones para los

análisis con una y tres particiones, y 20 millones de generaciones para el análisis con cinco particiones. Utilizando el programa TRACER v1.3 (Rambaut y Drummond, 2007), se revisó la convergencia de las búsquedas, examinando los valores de probabilidad ( $-\ln L$ ) por generación, y además se revisó el tamaño efectivo de la muestra (ESS). Se utilizó la opción que descarta los primeros árboles generados (burn in) ya que suelen tener probabilidades muy bajas. Se prescindió del primer 10% de las generaciones utilizadas en cada análisis (relburnin = yes burnfrac = 0,10).

Se evaluaron las tres estrategias de partición mediante el factor bayesiano que es un valor que nos permite comparar las estrategias de partición utilizadas. El valor de factor bayesiano entre la estrategia  $a$  y la estrategia  $b$  ( $FB_{ab}$ ) representa la relación entre las probabilidades marginales (Castañeda y de Queiroz, 2011). Las probabilidades marginales pueden ser estimadas por el cálculo de la media armónica de las probabilidades posteriores de las cadenas convergentes obtenidas del análisis bajo el algoritmo MCMC, la estimación de la media armónica puede ser inestable en algunos casos pero es suficientemente precisa al interpretarla como logaritmo ( $2\ln FB_{ab}$ ). Este valor logarítmico de comparación se obtuvo mediante el programa TRACER v1.3, utilizando los archivos .p generados con el comando sump disponible en MrBayes 3.1.2, valores superiores a 10 ( $2\ln FB_{ab} > 10$ ) significan un fuerte soporte para la estrategia  $a$  sobre la estrategia  $b$  (Torres-Carvajal *et al.*, 2006; Castañeda y de Queiroz, 2011).

### 4.3.3. TIEMPO DE DIVERGENCIA

El análisis cronofilogenético fue realizado bajo un marco bayesiano en el programa BEAST v1.7.4 (Drummond *et al.*, 2012; Drummond *et al.*, 2007). Se utilizó un individuo por

cada clado inferido en el árbol de IB, ya que las secuencias son muy similares dentro de cada clado y un análisis preliminar con todas las secuencias originales (69) no llegó a converger. Se utilizó el modelo “*uncorrelated lognormal*” con tasas de sustitución no-correlacionadas entre las ramas y la tasa para cada rama obtenida independientemente a partir de una distribución log-normal subyacente (Drummond *et al.*, 2007; Torres-Carvajal y de Queiroz, 2009).

Se utilizaron los parámetros predeterminados a excepción del parámetro *ucl.d.mean* de la tasa de las ramas, el cual fue fijado a un valor de 1.0. Esto hace que el tiempo estimado sea medido en unidades arbitrariamente escogidas (una unidad de tiempo corresponde al tiempo medio necesario para la acumulación de una sustitución por sitio), y es útil en casos en los cuales no se cuenta con puntos de calibración (Drummond *et al.*, 2007; Torres-Carvajal, 2009).

Se realizaron cuatro corridas independientes de 40 millones de generaciones, muestreando cada 1000 generaciones. Los resultados fueron analizados en el programa TRACER v1.3, se evaluó la convergencia y tamaño efectivo de la muestra (ESSs) para todos los parámetros. El árbol consenso (Maximum Clade Credibility Tree) se elaboró en el programa TreeAnnotator, parte del paquete BEAST, eliminando el 10% inicial de los árboles resultantes de cada corrida.

Además se llevó a cabo un análisis cronofilogenético con la tasa de evolución del fragmento mitocondrial igual a 1,3% de cambios / millón de años (0,65% de cambios / linaje / millón de años), ya que este valor ha sido utilizado en varios trabajos sobre filogeografía de reptiles donde se analiza el fragmento de ADN utilizado en el presente estudio (Campbell-Staton *et al.*, 2012; Glor *et al.*, 2004, 2005; Macey *et al.*, 1998; Torres-Carvajal y de Queiroz, 2009). Se utilizó la matriz completa con cinco particiones y los mismos protocolos descritos

en el análisis sin tasa de evolución pero aquí el parámetro *ucl.d.mean* de la tasa media de las ramas fue establecido en 0,0065 con límite superior de 0,007 e inferior de 0,006 y para los demás parámetros se mantuvieron los valores predeterminados (Torres-Carvajal y de Queiroz, 2009).

#### **4.4. DIVERSIDAD GENÉTICA**

##### **4.4.1. POLIMORFISMO Y DISTANCIAS GENÉTICAS**

El análisis comparativo de la variación de las secuencias de ADN dentro de especies (polimorfismo) y entre especies (divergencia) es un enfoque poderoso para comprender el proceso evolutivo, y representa una idea de la importancia funcional de regiones genómicas (Hutter *et al.*, 2006).

Con el programa DnaSP v5.10.01 (Librado y Rozas, 2009) se identificaron los sitios polimórficos del set de secuencias obtenidas, estos sitios representan alelos que difieren en la secuencia de nucleótidos (Rozas *et al.*, 2003). Además se determinó cuántos de estos sitios polimórficos son parsimónicamente informativos, es decir, sitios que tienen un mínimo de dos nucleótidos que están presentes al menos dos veces en el set de datos (Librado y Rozas, 2009). Se realizó un Análisis Molecular de Varianza estándar (AMOVA) en el programa ARLEQUIN 3.0 (Excoffier *et al.*, 2006). Estos análisis fueron realizados con el objetivo de comparar el polimorfismo genético y entender la estructura genética de las poblaciones comparando la variación inter e intrapoblacional.

Para cuantificar la divergencia entre las secuencias se calculó la matriz de distancias genéticas *p* corregidas del gen ND2, en base al modelo de sustitución obtenido en el programa jModelTest 0.1.1 bajo el criterio de información Akaike (AIC) (Posada, 2008) (Tabla 2). Este

análisis se llevó a cabo en el programa PAUP 4.0 (Swofford, 2003), varios autores sugieren que es mejor presentar las distancias corregidas en base al modelo de sustitución ya que consideran la posibilidad de que las bases nitrogenadas pueden sufrir múltiples eventos de sustitución (Lemey *et al.*, 2009).

#### **4.4.2. RED DE HAPLOTIPOS**

La red de haplotipos se entiende como un diagrama o árbol que muestra las relaciones entre los haplotipos presentes (Bloomquist *et al.*, 2010). Este análisis nos permite estimar las relaciones intraespecíficas, que generalmente presentan un tiempo de divergencia mucho menor que las relaciones interespecíficas, e identificar grupos haplotípicos y observar el número de sustituciones que los separan (Templeton *et al.*, 1992).

Los haplotipos inferidos de los análisis de variación del ADNmt pueden ser representados en un gráfico evolutivo denominado red o árbol haplotípico, el mismo que muestra la acumulación de mutaciones en linajes de ADN a lo largo del tiempo (Templeton, 2004). Estos árboles de haplotipos son sobrepuestos o comparados con mapas geográficos para hacer inferencias filogeográficas.

Aunque esta superposición visual de los árboles de haplotipos sobre mapas geográficos puede sugerir eventos o procesos filogeográficos, no constituye una estimación formal o marco de hipótesis. No existe una determinación de si los individuos y sitios geográficos muestreados son suficientes para asegurar que los patrones observados no podrían haber surgido al azar. Incluso cuando uno acepta estos patrones como reales, no existe un marco formal, explícito e interpretativo para llegar a conclusiones biológicas de los patrones



observados (Templeton, 2004). Es por esto que la construcción de la red de haplotipos es una herramienta que complementa los demás análisis realizados en el presente trabajo.

Utilizando el programa DnaSP v5.10.01 (Librado y Rozas, 2009) se calculó la cantidad y estructura de los haplotipos para cada especie. Además se estimaron los valores de diversidad haplotípica ( $H_d$ ) (Nei, 1987), número medio de diversidad nucleotídica ( $K$ ) (Tajima, 1983) y diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) (Nei, 1987). Se diagramó y editó la red de haplotipos con el programa Networks 4.6.0.0 (Bandelt *et al.*, 1999) usando el algoritmo “Median-Joining” basado en máxima parsimonia.

#### **4.5. MODELAMIENTO DE NICHOS PRESENTE Y FUTURO**

El modelamiento predictivo de hábitat representa una herramienta importante en la biogeografía, evolución, ecología, conservación y manejo de especies invasivas. Este análisis combina datos de presencia y/o ausencia con variables ecológicas y ambientales, para generar un modelo de requerimientos de la especie para las variables examinadas (Anderson *et al.*, 2003).

Se realizó el modelo predictivo de nicho en el presente y la proyección al año 2050 de cada especie, mediante un método correlativo de modelamiento basado en Máxima Entropía en el programa Maxent (Phillips *et al.*, 2004), el mismo que tiene una alta capacidad predictiva y utiliza únicamente datos de presencia (Phillips *et al.*, 2006).

A más de las localidades utilizadas en los análisis previos, se contó con localidades de toda la distribución de las especies compiladas por Arteaga y Bustamante (2012) en base a literatura científica y datos de museo (Anexo 3). Es importante tener la mayor cantidad de información de presencia de las especies ya que se tendrá más parámetros de restricción e

información para el modelo. Los análisis fueron realizados con un total de 66 localidades para *A. gemmosus* y 66 localidades para *A. aequatorialis*, de las cuales el programa eliminó las localidades que se solapan en menos de 1 km.

Las capas ambientales usadas corresponden a 11 variables de temperatura y 8 de precipitación (Tabla 3) de la base de datos WorldClim, en formato ASCII (Hijmans *et al.*, 2005), con un ancho de pixel equivalente a 30 segundos ( $\sim 1 \text{ km}^2$ ). Las capas fueron cortadas para trabajar a nivel de Ecuador.

Se utilizó el umbral “*Maximum training sensitivity plus specificity (G)*” obtenido en el modelo MaxEnt, con el objetivo de generar un mapa binario de presencia a partir de un mapa de probabilidades de presencia. Este umbral de sensibilidad a más de ser uno de los más utilizados en la literatura, estadísticamente es uno de los mejores para predecir la distribución (Liu *et al.*, 2005).

Para el modelo proyectado al año 2050 se utilizaron las condiciones climáticas definidas por el modelo HadCM3 bajo el escenario de emisión de gases de efecto invernadero A2 generado por el modelo general de circulación (AOGCM) (Gordon *et al.*, 2000; Nakicenovic y Swart, 2000). El escenario A2 muestra las mayores emisiones de gases de efecto invernadero y describe un crecimiento poblacional alto y desarrollo económico y tecnológico lentos (Arnell *et al.*, 2004). Se utilizó este modelo por fines comparativos ya que es uno de los más utilizados en trabajos con anfibios y reptiles.

Para evaluar el modelo obtenido en MaxEnt, se usó el área bajo las curvas ROC denominada AUC. El AUC representa una medida global de la exactitud o rendimiento de la

prueba, el valor óptimo de rendimiento predictivo es 1, pero de acuerdo a la literatura los valores en un rango de 0,85–1 son considerados de alto soporte (Elith *et al.*, 2006).

Se dividió los datos originales de presencia en dos conjuntos; el grupo de entrenamiento con 75% que fue seleccionado al azar y un conjunto de pruebas con el 25% restante, con el objetivo de evaluar la capacidad predictiva del modelo encontrado (Menéndez-Guerrero y Graham, 2013).

## 5. RESULTADOS

### 5.1. RELACIONES FILOGENÉTICAS

Se obtuvo las secuencias de 69 individuos (29 de *Anolis aequatorialis* y 40 de *A. gemmosus*), correspondientes a 12 localidades (Anexo 1). Se secuenció el fragmento de ADN compuesto por el gen mitocondrial ND2 (~ 1030 pb) y los genes que codifican para ARNt<sup>Ile</sup>, ARNt<sup>Gln</sup>, ARNt<sup>Met</sup>, ARNt<sup>Trp</sup>, ARNt<sup>Ala</sup>, ARNt<sup>Asn</sup>, OL, ARNt<sup>Cys</sup> y ARNt<sup>Tyr</sup> (~ 680 pb) (Anexo 4).

En base al análisis del factor bayesiano, la estrategia con cinco particiones resultó ser la mejor, frente a las estrategias de tres y una partición. Además se obtuvieron valores del factor bayesiano mayores a 10, lo que brinda confiabilidad al modelo (Tabla 4). La topología del árbol obtenido tanto en el análisis de máxima verosimilitud como en el de inferencia bayesiana es idéntica, pero varían los valores de soporte de las ramas dependiendo del análisis (Fig. 3).

Para *A. aequatorialis* el análisis bajo el criterio de Inferencia Bayesiana identifica cinco clados con ramas largas y un alto soporte de probabilidad posterior (> 0,95): (a) Norte del Río Chota, (b) Noreste del Río Toachi, (c) Suroeste del Río Toachi A, (d) Suroeste del Río Toachi B, (e) Norte del Río Chimbo (Fig. 4). El árbol de Máxima Verosimilitud identifica los mismos clados que el árbol bayesiano con un alto soporte (> 0,75) para las ramas, con excepción de la rama donde divergen el clado a de los demás clados b, c, d, e y la rama donde divergen los clados c, d de e (Fig. 5) las mismas que presentan soporte bajo (<0,75).

Para *A. gemmosus* el árbol de Inferencia Bayesiana presenta una tritomía basal. Se identifican los siguientes clados con alto soporte (> 0,95): (I) Norte del Río Chota, (III)

Suroeste del Río Toachi B, (IV) Noreste del Río Toachi y (V) Suroeste del Río Toachi A. Mientras que las ramas con valores de probabilidad posterior  $< 0,95$  son: (II) Norte del Río Guayllabamba, la rama donde diverge el clado formado por I, II, III del clado formado por IV, V, la rama donde divergen los clados I, II del clado III y la rama donde diverge el clado I del clado II (Fig. 4). El árbol de Máxima Verosimilitud identifica los mismos clados y presenta la misma tritomía basal, las ramas presentan un buen soporte ( $> 0,75$ ) a excepción de la rama donde diverge el clado I del II ( $< 0,75$ ) (Fig. 5).

Para *A. aequatorialis* la topología de los árboles indica que el clado más septentrional “Norte del Río Chota” es el grupo hermano de los clados del sur. Mientras que en *A. gemmosus* por la falta de soporte de las ramas no se puede inferir un patrón de divergencia a partir de la topología de los árboles.

## 5.2. TIEMPO DE DIVERGENCIA

Se realizaron dos árboles cronofilogenéticos, uno que infiere tiempos relativos de divergencia (Fig. 6) y otro que infiere tiempos de divergencia calibrados con la tasa de evolución molecular de 1,3% divergencia / millones de años (0,65% de cambios / linaje / millón de años). El árbol en base a la tasa de evolución nos da una estimación de que la separación de ambas especies fue hace aproximadamente 37 millones de años (Fig. 7).

Los análisis cronofilogenéticos muestran que *A. gemmosus* y *A. aequatorialis* son similares en su estructura poblacional, la separación mas notable es la de la población del Norte del Río Chota. Además muestran que las poblaciones de *A. aequatorialis* empiezan a divergir antes que las poblaciones de *A. gemmosus*.

De acuerdo con el árbol cronofilogenético calibrado, en *A. aequatorialis* el clado (a) diverge del clado (b, c, d, e) hace ~18 Ma., el clado (b) diverge de (c, d, e) hace ~15 Ma., el clado (c, d) diverge de (e) hace ~13 Ma., y finalmente el clado (c) diverge de (d) hace ~5 Ma. (Fig. 7). En *A. gemmosus* el clado (I) diverge de (II, III, IV, V) hace ~7 Ma., el clado (II, III) diverge de (IV, V) hace ~4,4 Ma., el clado (II) diverge de (III) hace ~3,8 Ma. y finalmente el clado (IV) diverge de (V) hace ~2,5 Ma. (Fig. 7).

### 5.3. POLIMORFISMO GENÉTICO Y DISTANCIAS GENÉTICAS

Las 29 secuencias de *A. aequatorialis* analizadas muestran 190 sitios variables polimórficos y 172 sitios informativos parsimónicos y las 40 secuencias de *A. gemmosus* analizadas muestran 79 sitios variables polimórficos y 64 sitios informativos parsimónicos.

El AMOVA indica para *A. aequatorialis* que la variación entre grupos o interpoblacional (86,87%) es mayor que la variación dentro de grupos o intrapoblacional (13,13%) (Tabla 5) y para *A. gemmosus* de igual manera indica que la variación entre grupos (59,8%) es mayor que la variación dentro de grupos (40,23%) (Tabla 6); los análisis en ambas especies arrojaron resultados altamente significativos ( $p < 0.001$ ). Además la variación de *A. aequatorialis* es mucho mayor que en *A. gemmosus*, lo que sugiere que la radiación de *A. aequatorialis* es anterior que la radiación de *A. gemmosus* (Glor *et al.*, 2001). Finalmente la variación intrapoblacional en *A. gemmosus* es mucho mayor que la de *A. aequatorialis*, es decir que las poblaciones de *A. gemmosus* no han acumulado una diferenciación haplotípica tan marcada como *A. aequatorialis*. Es por esto que en *A. gemmosus* es poca la diferencia entre variación interpoblacional y variación intrapoblacional (59,8% vs. 40,23%).

La matriz de las distancias genéticas corregidas para cada especie se obtuvo a partir del gen ND2. Se obtuvo valores muy bajos para *A. gemmosus*, donde la mayor variación se encuentra en el clado del Norte del Río Chota (3–4%) (Tabla 7). En *A. aequatorialis* las distancias genéticas fueron mayores que en *A. gemmosus*, igualmente el clado del Norte del Río Chota es el que presenta una distancia genética mayor (9–11%) en relación a los demás clados (Tabla 8).

#### 5.4. RED DE HAPLOTIPOS

La red de haplotipos inferida para *A. aequatorialis* concuerda con los resultados obtenidos en la filogenia. Se obtuvieron 18 haplotipos (h) con una diversidad haplotípica (Hd) de 0,95 y una diversidad nucleotídica (pi) de 0,044. Se observaron grupos haplotípicos bien diferenciados, que concuerdan con los clados de los árboles filogenéticos inferidos (Fig. 8; Anexo 5).

Para *A. gemmosus* se obtuvieron 17 haplotipos (h) con una diversidad haplotípica (Hd) de 0,93 y una diversidad nucleotídica (pi) de 0,014. Igualmente se observaron grupos haplotípicos que concuerdan con los clados obtenidos en los árboles filogenéticos. Pero aquí, a diferencia de la tritomía inferida con los análisis filogenéticos, todos los individuos del Noreste del Río Toachi forman parte del mismo haplotipo (Fig. 9; Anexo 6).

#### 5.3. MODELAMIENTO DE NICHOS PRESENTE Y FUTURO

El AUC obtenido del modelo de ambas especies indica un alto rendimiento predictivo, por lo tanto los modelos pueden considerarse válidos. En *A. aequatorialis* el AUC fue de 0,95 y las variables que más contribuyeron al modelo fueron la temperatura media del cuatrimestre más cálido y la estacionalidad de precipitación. Para *A. gemmosus* el AUC fue de 0,97 y la

variables que más aportaron al modelo fueron la temperatura media del cuatrimestre más cálido y la estacionalidad de temperatura.

En la figura 10 se observa en color azul la zona de distribución predicha por el modelo para ambas especies, basados en los puntos de presencia de cada especie (puntos de color en los mapas) y en las variables climáticas asociadas. El mapa de *A. aequatorialis* muestra evidentemente una distribución en las estribaciones de la Cordillera Occidental, pero también muestra zonas ambientalmente idóneas que no pertenecen a la distribución real de la especie: Las estribaciones de la cordillera Oriental y La zona sur a la altura de la provincia de Loja y Zamora (Fig. 10A). Un panorama similar muestra el modelo para *A. gemmosus* ya que se distribuye en las estribaciones de la Cordillera Occidental, pero el área modelada en el sur a partir de la provincia de Bolívar hasta Perú y la zona de las estribaciones orientales de la cordillera no concuerdan con la distribución real de la especie (Fig. 10B).

En el caso de la proyección al año 2050 los mapas presentados en la figura 11 nos indican los lugares donde se cumplirían los requerimientos de cada especie en el año 2050, basado en el escenario de cambio climático explicado anteriormente.

En *A. aequatorialis* el modelo futuro se proyectó ligeramente al este del modelo presente (Fig. 12) lo que indica un desplazamiento hacia zonas más altas de la Cordillera Occidental. No hay cambios en la distribución de norte a sur y aún se predicen zonas climáticamente idóneas para la especie en la Cordillera Oriental, pero la colonización de estas áreas es poco probable debido a que la cordillera es una barrera muy significativa y actualmente estas especies no se encuentran en el lado Oriental de la cordillera.



En *A. gemmosus* de igual manera observamos un ligero desplazamiento hacia zonas más altas en la Cordillera Occidental sobre todo al norte de la distribución (Fig. 13). La distribución de norte a sur no cambia y se predicen zonas de hábitat idóneo en la Cordillera Oriental. Al igual que en *A. aequatorialis* se sabe que esta especie no habita en la Cordillera Oriental.

## 6. DISCUSIÓN

El clado que abarca *A. gemmosus* y *A. aequatorialis* está conformado de tal manera que *A. gemmosus* es el taxón hermano del clado que agrupa a *A. aequatorialis* y *A. anoriensis*, especie colombiana que se distribuye al norte del Nudo de Pasto (Velasco *et al.*, 2010; Castañeda y de Queiroz, 2011). Además se sugiere que *A. otongae*, especie recientemente descrita, podría estar cercanamente relacionada con *A. gemmosus* (Ayala-Varela y Velasco, 2010).

La estimación del tiempo de divergencia entre *A. gemmosus* y *A. aequatorialis* es de ~37 Ma atrás (Fig. 7) con un intervalo de confianza de ~20-50 Ma, lo que sugiere que este evento probablemente se dio conjuntamente con el levantamiento de los Andes del Norte (hace ~23-34 Ma.) en el Oligoceno (Duellman, 1979; Hoorn *et al.*, 2010), o que las barreras geográficas se formaron poco tiempo antes del evento de divergencia.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo aportan información del patrón de divergencia de las poblaciones más no del estatus filogenético del grupo *Dactyloa* ya que no se trabajó con todas las especies que lo conforman.

### 6.1. FILOGEOPGRAFÍA DE *A. GEMMOSUS* Y *A. AEQUATORIALIS*

Los análisis filogeográficos realizados en el presente estudio revelan altos niveles de divergencia poblacional dentro de *A. aequatorialis*, como se ha visto en los trabajos realizados para otras especies con un rango de distribución amplio (Campbell-Staton *et al.*, 2012). Sin embargo, pese a tener también una distribución amplia *A. gemmosus* muestra un nivel de divergencia poblacional bajo.

Intraespecíficamente *A. aequatorialis* ha acumulado mayor diferenciación genética que *A. gemmosus*, sin embargo en ambas especies encontramos clados estructurados de manera similar, es decir con poblaciones geográficamente concordantes y que tienen restringido flujo génico entre sí. El ejemplo más visible de esto es el alto nivel de divergencia del clado del Norte de Río Chota en relación al clado del sur en ambas especies, además es el clado con mayores distancias genéticas en ambos casos. El marcador molecular utilizado en los análisis filogenéticos y cronofilogenéticos develó ramas más largas, clados mas definidos y mayor soporte en *A. aequatorialis*. Una posible explicación es que *A. aequatorialis* ha tenido más tiempo de divergencia, en el cual se pudo llegar a acumular una mayor diferenciación genética entre los linajes y haplotipos (Avise, 2000; Hickerson *et al.*, 2010). En *A. gemmosus* el marcador molecular mostró clados con ramas cortas y con un soporte no muy bueno, probablemente el tiempo de divergencia de esta especie aún es muy corto para acumular diferencias que definan los clados.

Los valores encontrados de diversidad haplotípica y diversidad nucleotídica para ambas especies sugieren un crecimiento rápido de la población a partir de una población efectiva ancestral pequeña, teniendo el tiempo suficiente para recuperar la variación haplotípica, vía mutaciones, pero no para acumular una gran diferenciación a nivel de secuencias (Avise, 2000), es decir, encontramos en ambas especies haplotipos y clados definidos, pero la mayoría no llegan a un nivel de divergencia que nos permita inferir un linaje completamente separado.

Se sabe que la compleja historia topográfica y climática de los Andes tuvo y tiene un profundo efecto sobre la especiación y distribución de los organismos a lo largo de la Cordillera Occidental del Ecuador y las regiones adyacentes (Lynch y Duellman, 1997). Las barreras altitudinales, los ríos, los valles secos y la estructura heterogénea del bosque pueden

desencadenar procesos evolutivos que promuevan la diversificación (Avila-Pires, 1995; Moritz *et al.*, 2000), factores que podría explicar la estructura de los linajes poblacionales de *A. aequatorialis* y *A. gemmosus*. Los límites geográficos inferidos para los clados hallados en el presente estudio son: (1) El clado denominado “Norte del Río Chota” probablemente tiene sus límites al norte en el nudo de Pasto donde se encuentra el Valle seco del Río Patía y al sur por el valle seco del Río Chota (no se tiene datos moleculares de individuos de las localidades colombianas). Este clado es muy marcado en ambas especies, pero en *A. aequatorialis* alcanza una distancia genética del 11% lo cual es un valor considerable e indica una diferenciación marcada de esta población. (2) Siguiendo hacia el sur clado denominado “Norte del Río Guayllabamba” limita con el Valle seco del Río Guayllabamba. Este es un clado bien representado en *A. gemmosus*, diverge a partir del clado del norte, pero para *A. aequatorialis* no se tienen datos moleculares de esta población. (3) Un caso particular ocurre entre el clado “Noreste del Río Toachi” con los clados “Sur Oeste del Río Toachi A” y “Sur Oeste del Río Toachi B” ya que son poblaciones muy cercanas geográficamente, pero que en todos los análisis moleculares resultaron en clados separados, esto probablemente se deba a la barrera que proporciona el Río Toachi, que separa a las poblaciones del noreste de las poblaciones del suroeste. A pesar de que este río no ha sido descrito previamente como una barrera para la herpetofauna (Duellman, 1979; Lynch y Duellman, 1997), existe el caso de *Anolis otongae*, una especie recientemente descrita, que se restringe a la región del bosque nublado al suroeste del Río Toachi entre las provincias de Cotopaxi y Pichincha a 1800 y 2500 msnm (Ayala-Varela y Velasco, 2010), por lo que se pensaría que este río es una barrera geográfica para *Anolis*. (4) Entre los clados “Sur Oeste del Río Toachi A” y “Sur Oeste del Río Toachi B” no existe una barrera geográfica evidente y la distancia genética entre estos clados es baja, por lo tanto posiblemente se necesite mayor esfuerzo de muestreo entre la distribución de las dos

poblaciones o exista un proceso de divergencia que no se deba a factores geográficos sino ecológicos. (5) Finalmente el clado “Norte del Río Chimbo” sólo está representado en *A. aequatorialis*, pero en esta región existe una especie aún no descrita que es muy similar morfológicamente a *A. gemmosus* que probablemente sea la razón por la que *A. gemmosus* no esta presente en esta zona geográfica. El límite norte de esta población no está marcado ya que no existe una barrera significativa, como en el caso del Río Toachi y el valle seco asociado al mismo, sino que son varios ríos que separan a esta población de la de las poblaciones Sur Oeste del Río Toachi A y Sur Oeste del Río Toachi B. Por lo tanto la distribución de *A. aequatorialis* se extiende más hacia el sur que *A. gemmosus*.

Los límites geográficos establecidos anteriormente también se sustentan en el hecho que *A. gemmosus* y *A. aequatorialis* son especies similares morfológicamente (Castañeda y de Queiroz, 2011), con requerimientos climáticos muy parecidos (Fig. 10 y Fig. 11), genéticamente muy cercanas (Castañeda y de Queiroz, 2011) y posiblemente con un poder de dispersión muy similar.

Si las mismas barreras geográficas limitan las poblaciones actuales de ambas especies y estas poblaciones no surgieron al mismo tiempo o por el mismo evento de vicarianza se puede sugerir que la radiación de las poblaciones de *A. aequatorialis* ha sido por dispersión y colonización, y *A. gemmosus* repitió el proceso varios millones de años después. Lo importante es reconocer el papel de estas barreras en la estructura poblacional de ambas especies.

Las poblaciones de *A. aequatorialis* debido a su mayor tiempo de divergencia han acumulado mayor diferenciación que *A. gemmosus* y por esto los linajes poblacionales son

más definidos, pero es evidente que en ambas especies el valle del Río Chota es una barrera poblacional importante aun cuando no tengan el mismo tiempo de divergencia. Se podría esperar que las poblaciones de *A. gemmosus* tiendan a diferenciarse de igual manera que las de *A. aequatorialis*, marcando así la importancia de ríos y valles secos como barreras efectivas en la separación poblacional de *Anolis* en los Andes Tropicales.

Se conoce que *A. gemmosus* y *A. aequatorialis* habitan los bosques húmedos y que la tolerancia de temperatura varía de 16–20,4 °C y 18,5–22 °C respectivamente, por lo tanto es coherente pensar que las zonas secas y muy calientes puedan ser barreras que limiten el flujo génico entre las poblaciones. Se sabe además que para la herpetofauna los ríos y valles secos de los Andes pueden actuar como barreras geográficas (Duellman, 1979).

## 6.2. TIEMPOS DE DIVERGENCIA

Los tiempos de divergencia obtenidos en este trabajo nos dan una idea del proceso de divergencia de las poblaciones. *A. aequatorialis* empieza su radiación hace ~18 Ma., separando los clados del Norte del Río Chota de los demás clados en el sur. Además se observa que los clados más recientes son los clados del Suroeste de Río Toachi A y B que se separaron hace ~5 Ma. Mientras que en *A. gemmosus* el clado del Norte del Río Chota diverge de los clados del sur hace ~7 Ma., y los clados más recientes son los del Noreste y Sureste del Río Toachi que divergieron hace ~2,5 Ma.

Hay evidencia de que la tasa de evolución molecular puede variar dependiendo de varios factores, tales como la tasa metabólica de los organismos (Gillooly *et al.*, 2005). Además el tiempo de divergencia puede ser menor al estimado, debido a que en nuestros datos no se usó el fragmento entero que utilizó Macey *et al.* (1998), sino que se excluyó el gen de evolución

más lenta COI por lo tanto la tasa de evolución molecular del fragmento analizado podría ser mayor al 1,3% de cambios / millón de años (Campbell-Staton *et al.*, 2012).

Por lo tanto al igual que varios trabajos, aquí la hipótesis de refugios del pleistoceno no se cumple (Moritz *et al.*, 2000; Glor *et al.*, 2005; D'angiolella *et al.*, 2011), ya que el origen de estas dos especies y la radiación de sus clados son anteriores al Pleistoceno (~2-5 Ma.), pero las fluctuaciones climáticas del Pleistoceno pudieron acentuar la diferenciación de las poblaciones en ambas especies, debido a varios procesos de compresión y expansión poblacional por el aumento de nivel del glaciar (Torres-Carvajal, 2007; Koscinski *et al.*, 2008).

### **6.3. CAMBIO CLIMÁTICO Y DISTRIBUCIÓN**

El clima y la fisiografía de los Andes son factores muy importantes en la diversidad de la zona (Cadena *et al.*, 2012); la magnitud y rapidez del cambio climático es preocupante. Durante el siglo pasado la temperatura global aumentó en 0,6 °C y las predicciones son que el aumento de temperatura al final del presente siglo será de 6 °C. Algunas especies ya han respondido a un aumento de temperatura de 0,6 °C, pero es evidente que los efectos más importantes sobre las especies y los ecosistemas se producirán en el futuro (Beaumont *et al.*, 2005).

El cambio climático es una de las hipótesis que podría explicar la declinación de anfibios y reptiles durante las últimas décadas (Thuiller y Pearson, 2006), es por esto que el modelamiento predictivo de nicho a más de ser un aporte valioso para trabajos de ecología, evolución y manejo de especies invasivas es una herramienta muy útil para estudios de conservación (Phillips *et al.*, 2006).

La distribución actual de *A. gemmosus* y *A. aequatorialis* es bastante amplia en las estribaciones occidentales del Ecuador y norte de Colombia y los análisis de modelamiento de nicho muestran que su potencial distribución en el año 2050 permanece muy similar por lo que no podemos catalogarlas como especies que tendrán un cambio drástico en su hábitat o que estén en riesgo de extinguirse. Cabe recalcar que el modelamiento de nicho no toma en cuenta la capacidad de dispersión, la ecología y la fisiología de los organismos, así como tampoco la fragmentación o deterioro del hábitat por actividades antropocéntricas.

Observamos también que los mapas de modelamiento del nicho son muy parecidos y que el mapa de la predicción al año 2050 presenta casi los mismos cambios de distribución en ambas especies, además la variable climática que más influye en la distribución de ambas especies es la bio10: temperatura media del cuatrimestre más cálido, es decir que las presiones ambientales para ambas especies son similares. Por lo tanto podemos decir que estas dos especies simpátricas, *A. gemmosus* y *A. aequatorialis*, tienen requerimientos climáticos muy similares.

Por otra parte como pudimos observar en los modelos presentados, tanto *A. aequatorialis* como *A. gemmosus* muestran que las regiones idóneas para la supervivencia de las mismas se desplazan ligeramente a sitios más altos de la cordillera. Este desplazamiento altitudinal es una de las respuestas de los organismos frente al cambio climático que se ha documentado y que se predice para los próximos años (Shoo *et al.*, 2006; Seimon *et al.*, 2007; Lenoir *et al.*, 2008; Güizado-Rodríguez *et al.*, 2012).



Es muy importante para tener una idea clara de respuesta de los organismos frente al cambio climático y al posible cambio de su hábitat idóneo, realizar trabajos más profundos y detallados de la ecología, fisiología y comportamiento de los organismos.

## 7. CONCLUSIONES

- El fragmento de ADN mitocondrial utilizado muestra que las ramas intraespecíficas de *A. aequatorialis* son más largas y con mayor soporte que las de *A. gemmosus* debido a que las poblaciones de *Anolis aequatorialis* divergen antes que las poblaciones de *Anolis gemmosus*.
- La estructura poblacional en *A. gemmosus* y *A. aequatorialis* es similar y al ser especies morfológica, ecológica y filogenéticamente similares posiblemente las mismas barreras geográficas estarían limitando sus poblaciones.
- La variación genética dentro de *A. aequatorialis* es mayor que la variación dentro de *A. gemmosus*. La distancia genética de la población al Norte del Río Chota de *A. aequatorialis* alcanza un 10% de distancia genética, lo que podría sugerir un proceso de especiación.
- Las mismas barreras geográficas limitan las poblaciones actuales de ambas especies aunque estas poblaciones no surgieron al mismo tiempo.
- Las poblaciones de *A. gemmosus* y *A. aequatorialis* llegaron a su distribución actual por dispersión y colonización mas no por procesos simpátricos, ya que la divergencia de las poblaciones en ambas especies no concuerdan temporalmente.

## 8. RECOMENDACIONES

- Se sugiere realizar los análisis filogenéticos, cronofilogenéticos y filogeográficos con las especies *A. anoriensis* y *A. otongae* a más de *A. aequatorialis* y *A. gemmosus*. De esta manera se podrá establecer la filogenia de todo el clado y un patrón filogeográfico más completo.
- Se deben agregar datos moleculares de las localidades faltantes de cada especie, para cubrir todo el rango de distribución y así tener análisis moleculares más completos.
- Cuantificar la magnitud y dirección del cambio del área predicha, excluyendo de los análisis las zonas predichas a los que se sabe que estas especies no pueden migrar, para tener una estimación acertada del cambio de área.
- Se debe realizar trabajo en ecología y comportamiento para establecer una posible respuesta de las especies al cambio climático, ya que los modelos sirven para saber el cambio de las zonas idóneas para la presencia de las especie, pero no nos permiten concluir cual será la respuesta de los organismos al cambio.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- Anderson, R.P., Lew, D., y Peterson, A.T. 2003. Evaluating predictive models of species distributions : criteria for selecting optimal models. *Ecological Modelling* 162: 211–232.
- Antonelli, A., Nylander, J., Persson, C., y Sanmartín, I. 2009. Tracing the impact of the Andean uplift on Neotropical plant evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106(24): 9749–54.
- Araújo, M.B., Diniz-Filho, A.F., Haywood, A.M., Nogue, D., Valdes, P.J., y Rahbek, C. 2008. Quaternary climate changes explain diversity among reptiles and amphibians. *Ecography* 31: 8–15.
- Araújo, M.B., Thuiller, W., y Pearson, R.G. 2006. Climate warming and the decline of amphibians and reptiles in Europe. *Journal of Biogeography* 33(10): 1712–1728.
- Arnell, N.W., Livermore, M.J.L., Kovats, S., Levy, P.E., Nicholls, R., Parry, M.L., y Gaffin, S.R. 2004. Climate and socio-economic scenarios for global-scale climate change impacts assessments: characterising the SRES storylines. *Global Environmental Change* 14(1): 3–20.
- Arteaga, A.F. 2012. *Anolis aequatorialis*. En *The Amphibians and Reptiles of Mindo*. Version 2012.a., (eds). Arteaga, A.F., Bustamante-Enríquez, L.M., y Guayasamin, J.M. <[www.tropicalherping.com/articles/inventories/mindo/main.html](http://www.tropicalherping.com/articles/inventories/mindo/main.html)>.
- Avila-Pires, T.C.S. 1995. Lizards of Brazilian Amazonia (Reptilia: Squamata). *Zoologische Verhandelingen* 299: 1–706.

- Avice, J.C. 1998. The history and purview of phylogeography: a personal reflection. *Molecular Ecology* 7(4): 371–379.
- Avice, J.C. 2000. *Phylogeography: The History and Formation of Species*, Harvard University Press Cambridge MA. Harvard University Press, Massachusetts, USA.
- Ayala-Varela, F., Carvajal-Campos, A. 2010. *Anolis gemmosus*. En: Torres-Carvajal, O. (ed). *Reptiles de Ecuador*. Quito, Ecuador. [en línea]. Ver. 2.0 (13 mayo 2010) Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito, Ecuador. <<http://zoologia.puce.edu.ec/vertebrados/reptiles/FichaEspecie.aspx?Id=547>> [Consulta: viernes, 19 de agosto de 2011].
- Ayala-Varela, O., Carvajal-Campos, A., y Rodríguez-Guerra, A. 2011. *Anolis aequatorialis*. En: Torres-Carvajal, O. (ed). *Reptiles de Ecuador*. Quito, Ecuador. [en línea]. Ver. 2.0 (13 mayo 2010) Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito, Ecuador. <<http://zoologia.puce.edu.ec/vertebrados/reptiles/FichaEspecie.aspx?Id=535>> [Consulta: jueves, 22 de septiembre de 2011].
- Ayala-Varela, F., y Torres-Carvajal, O. 2010. A new species of dactyloid anole (Iguanidae, Polychrotinae, *Anolis*) from the southeastern slopes of the Andes of Ecuador. *ZooKeys* 73(53): 59–73.
- Ayala-Varela, F., y Velasco, J.A. 2010. A new species of dactyloid anole ( SQUAMATA : IGUANIDAE ) from the western Andes of Ecuador. *Zootaxa* 2577: 46–56.

- Báez, S., Cuesta, F., Cáceres, Y., Arnillas, C.A., y Vásquez, R. 2011. Síntesis del conocimiento sobre los efectos del cambio climático en la biodiversidad de los Andes Tropicales. In: Serie Panorama Andino Sobre Cambio Climático. CONDESAN, SGCAN pp. 1–47. Lima-Quito.
- Bandelt, H.J., Forster, P. y Röhl, A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16: 37–48.
- Beaumont, L.J., Hughes, L., y Poulsen, M. 2005. Predicting species distributions: use of climatic parameters in BIOCLIM and its impact on predictions of species current and future distributions. *Ecological Modelling* 186(2): 251–270.
- Bent, O.P., y Neils, K. 1998. Avifaunal diversity of five high-altitude cloud forests on the Andean western of Ecuador: testing a rapid assessment method. *Journal of Biogeography* 25(1): 83–93.
- Bermingham, E., y Martin, A. 1998. Comparative mtDNA phylogeography of neotropical freshwater fishes: testing shared history to infer the evolutionary landscape of lower Central America. *Molecular ecology* 7(4): 499–517.
- Bloomquist, E.W., Lemey, P., y Suchard, M.A. 2010. Three roads diverged? Routes to phylogeographic inference. *Trends in Ecology and Evolution* 25(11): 626–32.
- Brandley, M.C., Schmitz, A., y Reeder, T.W. 2005. Partitioned Bayesian analyses, partition choice, and the phylogenetic relationships of scincid lizards. *Systematic Biology* 54(3): 373–390.

- Brumfield, R.T., y Edwards, S.V. 2007. Evolution into and out of the Andes: a Bayesian analysis of historical diversification in *Thamnophilus antshrikes*. *Evolution* 61(2): 346–67.
- Bustamante-Enríquez, L.M., y Arteaga, A. F. (2012) *Anolis gemmosus*. En *The Amphibians and Reptiles of Mindo*. Version 2012.a., (eds). Arteaga A.F, Bustamante-Enríquez L. M., y Guayasamin. J. M. <[www.tropicalherping.com/articles/inventories/mindo/main.html](http://www.tropicalherping.com/articles/inventories/mindo/main.html)>.
- Cadena, C.D., Kozak, K.H., Gómez, J.P., Parra, J.L., McCain, C.M., Bowie, R.C.K., Carnaval, A.C., Moritz, C., Rahbek, C., Roberts, T.E., Sanders, N.J., Schneider, C.J., VanDerWal, J., Zamudio, K.R., y Graham, C.H. 2012. Latitude, elevational climatic zonation and speciation in New World vertebrates. *Proceedings of The Royal Society* 279: 194–201.
- Camargo, A., Sinervo, B., Sites, J. 2010. Lizards as model organisms for linking phylogeographic and speciation studies. *Molecular ecology* 19(16): 3250–3270.
- Campbell-Staton, S.C., Goodman, R.M., Backström, N., Edwards, S. V., Losos, J.B., y Kolbe, J.J. 2012. Out of Florida: mtDNA reveals patterns of migration and Pleistocene range expansion of the Green Anole lizard (*Anolis carolinensis*). *Ecology and Evolution* 2(9): 2274–2284.
- Castañeda, M., y de Queiroz, K. 2011. Phylogenetic relationships of the Dactyloa clade of *Anolis* lizards based on nuclear and mitochondrial DNA sequence data. *Molecular phylogenetics and evolution* 61(3): 784–800.

- D'Angiolella, A.B., Gamble, T., Avila-Pires, T.C., Colu, G.R., Noonan, B.P., y Vitt, L.J. 2011. *Anolis chrysolipes* Duméril and Bibron, 1837 (Squamata: Iguanidae), revisited: molecular phylogeny and taxonomy of the *Anolis chrysolepis* species group. Bulletin of the Museum of Comparative Zoology 160(2): 35–63.
- Drummond, A.J., Ho, S., Raelence, N., y Rambaut, A. 2007. A Rough Guide to BEAST 1.4. Department of Computer Science The University of Auckland 1: 1–41.
- Drummond, A.J., Ashton, B., Buxton, S., Cheung, M., Cooper, A., Duran, C., Field, M., Heled, J., Kearse, M., Markowitz, S., Moir, R., Stones-Havas, S., Sturrock, S., Thierer, T., Wilson, A. 2011. Geneious v5.4.6. <<http://www.geneious.com/>>
- Drummond, A.J., Suchard, M.A., Xie, D., y Rambaut, A. 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. Molecular Biology and Evolution. Evolutionary analysis. Version 2.75.
- Duellman, W.E. 1979. The herpetofauna of the Andes: patterns of distribution, origin, differentiation and present communities. In: The South American Heipetofauna: Its Origin, Evolution, and Dispersal (W.E. Duellman, ed.) pp. 371–459. Monograph of the Museum of Natural History, the University of Kansas, Kansas, USA.
- Elith, J., Graham, C.H., Anderson, R.P., Dudik, M., Ferrier, S., Guisan, A., Hijmans, R.J., Huettmann, F., Leathwick, J.R., Lehmann, A., Li, J., Lohmann, L.G., Loiselle, B.A., Manion, G., Moritz, C., Nakamura, M., Nakazawa, Y., Overton, M.J., Peterson, A.T., Phillips, S.J., Richardson, K., Scachetti-Pereira, R., Schapire, R.E., Soberón, J., Williams,



- S., Wisz, M.S., y Zimmermann, N.E. 2006. Novel methods improve prediction of species distributions from occurrence data. *Ecography* 2(1): 129–151.
- Excoffier, L., Laval, G. y Schneider, S. 2006. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: 47–50.
- Felsenstein, J., 1985. Confidence limits in phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783–791.
- Garreaud, R.. 2009. The Andes climate and weather. *Advances in Geosciences* 7(1): 1–9.
- Gillooly, J.F., Allen, A.P., West, G.B., y Brown, J.H. 2005. The rate of DNA evolution : Effects of body size and temperature on the molecular clock. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102(1): 140–145.
- Glor, R.E., Gifford, M.E., Larson, A., Losos, J.B., Schettino, L.R., Chamizo Lara, A.R., y Jackman, T.R. 2004. Partial island submergence and speciation in an adaptive radiation: a multilocus analysis of the Cuban green anoles. *Proceedings of The Royal Society* 271: 2257–2265.
- Glor, R.E., Kolbe, J.J., Powell, R., Larson, A., y Losos, J.B. 2003. Phylogenetic analysis of ecological and morphological diversification in Hispaniolan trunk-ground anoles (*Anolis cybotes* group). *Evolution* 57(10): 2383–2397.
- Glor, R.E., Losos, J.B., y Larson, A. 2005. Out of Cuba: overwater dispersal and speciation among lizards in the *Anolis carolinensis* subgroup. *Molecular Ecology* 14(8): 2419–2432.

- Glor, R.E., Vitt, L.J., y Larson, A. 2001. A molecular phylogenetic analysis of diversification in Amazonian *Anolis* lizards. *Molecular ecology* 10(11): 2661–8.
- Gordon, C., Cooper, C., Senior, C.A., Banks, H.T., Gregory, J.M., Johns, T.C., Mitchell, J.F., y Wood, R.A. 2000. The simulation of SST, sea ice extents and ocean heat transports in a version of the Hadley Centre coupled model without flux adjustments. *Climate Dynamics* 16: 147–168.
- Gregory-Wodzicki, K.M. 2000. Uplift history of the central and northern Andes: a review. *Geological Society of America Bulletin* 112(1): 1091–1105.
- Guisan, A., y Hofer, U. 2003. Predicting reptile distributions at the mesoscale: relation to climate and topography. *Journal of Biogeography* 30(8): 1233–1243.
- Güizado-Rodríguez, M., Ballesteros-Barrera, C., Casas-Andreu, G., Barradas-Miranda, V., Téllez-Valdés, O., y Salgado-Ugarte, I. 2012. The Impact of Global Warming on the Range Distribution of Different Climatic Groups of *Aspidoscelis costata costata*. *Zoological Science* 29(12): 834–843.
- Hickerson, M.J., Carstens, B.C., Cavender-Bares, J., Crandall, K.A., Graham, C.H., Johnson, J.B., Rissler, L., Victoriano, P.F., y Yoder, A.D. 2010. Phylogeography's past, present, and future: 10 years after Avise, 2000. *Molecular phylogenetics and evolution* 54(1): 291–301.
- Hijmans, R.J., Cameron, S.E., Parra, J.L., Jones, P.G., y Jarvis, A. 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 25(15): 1965–1978.

- Hillis, D. M., y Bull, J. J. 1993. An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology* 42 (2): 182–192.
- Hoorn, C., Wesselingh, F.P., Ter Steege, H., Bermudez, M. a, Mora, A., Sevink, J., Sanmartín, I., Sanchez-Meseguer, A., Anderson, C.L., Figueiredo, J.P., Jaramillo, C., Riff, D., Negri, F.R., Hooghiemstra, H., Lundberg, J., Stadler, T., Särkinen, y T., Antonelli, A. 2010. Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. *Science* 330(11): 927–931.
- Huelsenbeck, J. y Ronquist, F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17 (8): 754–755.
- Hutter, S., Vilella, A.J., y Rozas, J. 2006. Genome-wide DNA polymorphism analyses using VariScan. *BMC bioinformatics* 7(409): 1–10.
- Jackman, T.R., Irschick, D.J., De Queiroz, K., Losos, J.B., y Larson, A. 2002. Molecular Phylogenetic Perspective on Evolution of Lizards of the *Anolis grahami* Series. *Journal of Experimental Zoology* 294(6): 1–16.
- Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K., y Miyata, T. 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acid Research* Vol 30: 3059–3066.
- Kolbe, J.J., Glor, R.E., Rodríguez-Schettino, L., Chamizo-Lara, A., Larson, A., y Losos, J.B. 2004. Genetic variation increases during biological invasion by a Cuban lizard. *Nature* 431: 177–181.

- Koscinski, D., Handford, P., Tubaro, P.L., Sharp, S., y Lougheed, S.C. 2008. Pleistocene climatic cycling and diversification of the Andean treefrog, *Hypsiboas andinus*. *Molecular ecology* 17(8): 2012–2025.
- Lemey, P., Salemi, M., y Vandamme, A. 2009. *Phylogenetic Handbook*. Canbridge University Press., Cambridge.
- Lenoir, J., Gégout, J.C., Marquet, P. a, De Ruffray, P., Brisse, H. 2008. A significant upward shift in plant species optimum elevation during the 20th century. *Science* 320(6): 1768–1771.
- Librado, P., y Rozas, J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25(11): 1451–1452.
- Liu, C., Berry, P.M., Dawson, T.P., y Pearson, R.G. 2005. Selecting thresholds of occurrence in the prediction of species distributions. *Ecography* 18(3): 385–393.
- Losos, J. 2009. Darwin, Lizards, and Evolution. *The Latin American Connection* 1: 11–13.
- Lynch, J.D., y Duellman, W.E. 1997. *Frogs of the Genus Eleutherodactylus in Western Ecuador*. University of Kansas Printing Service, Kansas-USA.
- Maddison, W. y Maddison, D. 2010. *Mesquite: A modular system for evolutionary analysis*, v.2.74
- Malhotra, A., y Thorpe, R.S. 2000. The dynamics of natural selection and vicariance in the Dominican anole: patterns of within-island molecular and morphological divergence. *Evolution* 54(1): 245–258.

- Menéndez-Guerrero, P.A., y Graham, C.H. 2013. Evaluating multiple causes of amphibian declines of Ecuador using geographical quantitative analyses. *Ecography* 36: 1–14.
- Merino-Viteri, A., Coloma, L.A., y Almendáriz, A. 2005. Los *Telmatobius* (Leptodactylidae) de los Andes del Ecuador y su declive poblacional. . En: Lavilla, E. O. & De la Riva, I. (eds.), Estudios sobre las ranas andinas de los géneros *Telmatobius* y *Batrachophrynus* (Anura:Leptdactylidae). Asociación Herpetológica Española, Monografías de Herpetología 7. Valencia, España.
- Moritz, C., Patton, J.L., Schneider, C.J., y Smith, T.B. 2000. Diversification of Rain Forest Faunas: An Integrated Molecular Approach. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 31: 533–563.
- Nakicenovic, N., y Swart, R. 2000. IPCC Special Report on Emissions Scenarios. Cambridge University Press, Cambridge, Inglaterra.
- Nei, M. 1987. Molecular evolutionary genetics. Columbia Univ. Press, New York.
- Nicholson, K.E., Crother, B., Guyer, C., y Savage, J. 2012. It is time for a new classification of anoles (Squamata: Dactyloidae). *Zootaxa* 108(5): 1–108.
- Ogden, R., y Thorpe, R.S. 2002. Molecular evidence for ecological speciation in tropical habitats. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99(21): 13612–13615.
- O'Shaughnessy, A.W. 1875. List and revision of the species of Anolidae in the British Museum collection, with descriptions of new species. *Annals and Magazines of Natural History* 15: 270–281.

- Owen, J. G. 1989. Patterns of herpetofaunal species richness: relation to temperature, precipitation and variance in elevation. *Journal of Biogeography* 16: 141–150.
- Phillips, S.J., Anderson, R.P., y Schapire, R.E. 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling* 190: 231–259.
- Phillips, S.J., Dudík, M., y Schapire, R.E. 2004. A maximum entropy approach to species distribution modeling. *Proceedings of the 21st International Conference on Machine Learning* 1: 1–8.
- Poe, S. 2004. Phylogeny of anoles. *Herpetological Monographs* 1959(18): 37–89.
- Poe, S., Latella, I., Ryan, M., y Schaad, E. 2009. A new species of *Anolis* lizard ( Squamata , Iguania ) from Panama. *Phyllomedusa* 8(2): 81–87.
- Posada, D. 2008. jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25:1253–1256.
- Pounds, J., Fogden, M., y Campbell, J. 1999. Biological response to climate change on a tropical mountain. *Nature* 398(4): 611–615.
- Rabatel, A., Francou, B., Soruco, A., Gomez, J., Cáceres, B., Ceballos, J.L., Basantes, R., Vuille, M., Sicart, J.-E., Huggel, C., Scheel, M., Lejeune, Y., Arnaud, Y., Collet, M., Condom, T., Consoli, G., Favier, V., Jomelli, V., Galarraga, R., Ginot, P., Maisincho, L., Mendoza, J., Ménéguez, M., Ramirez, E., Ribstein, P., Suarez, W., Villacis, M., y Wagnon, P. 2013. Current state of glaciers in the tropical Andes: a multi-century perspective on glacier evolution and climate change. *The Cryosphere* 7(1): 81–102.

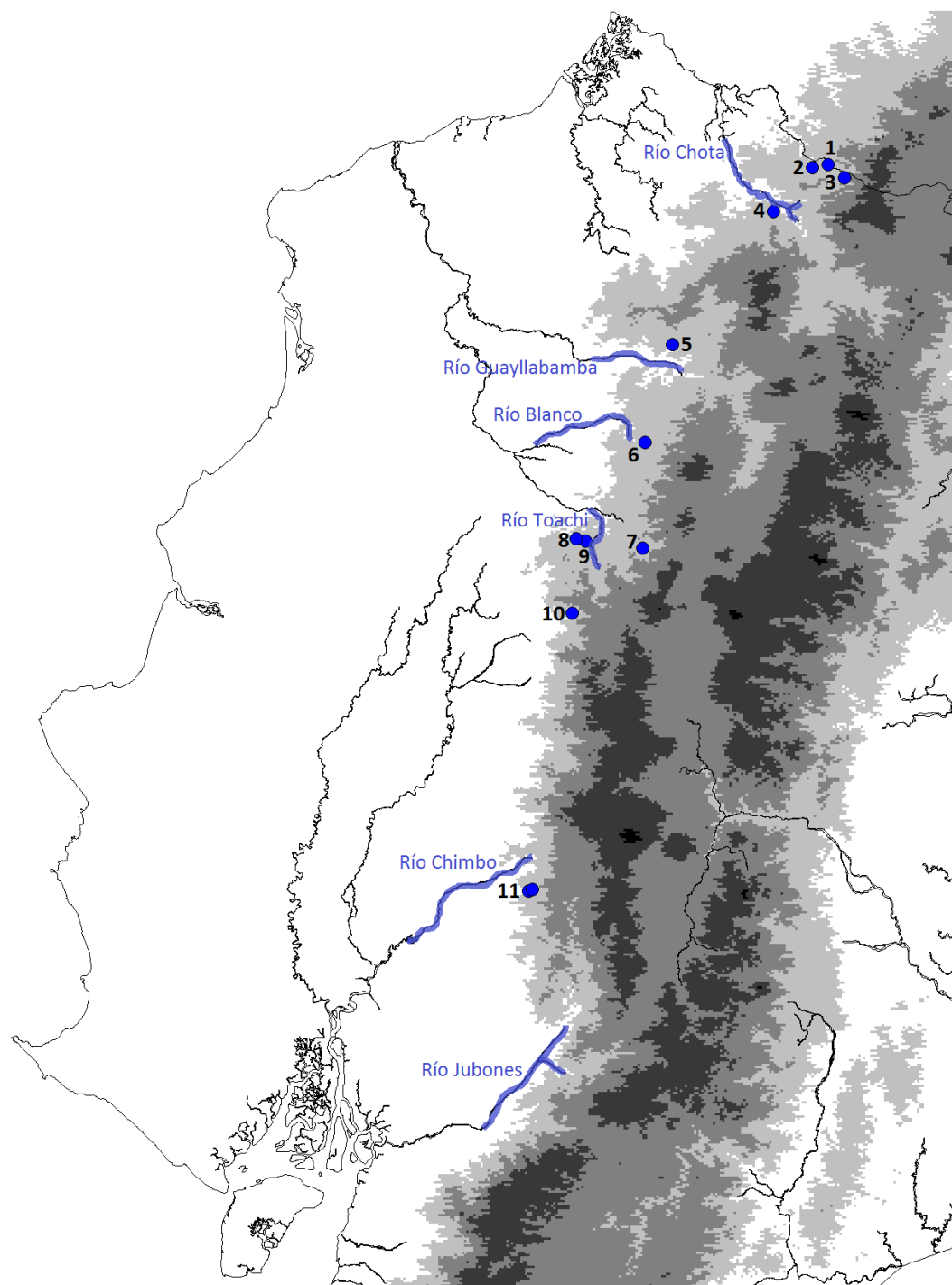
- Rambaut, A., y Drummond, A. J. 2007. Tracer v1.4. <<http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>>
- Rissler, L.J., Hijmans, R.J., Graham, C.H., Moritz, C., y Wake, D.B. 2006. Phylogeographic Lineages and Species Comparisons in Conservation Analyses: A Case Study of California Herpetofauna. *The American Naturalist* 167(5): 655–665.
- Rodríguez-Robles, J.A., Jezkova, T., y García, M.A. 2007. Evolutionary relationships and historical biogeography of *Anolis desecheensis* and *Anolis monensis*, two lizards endemic to small islands in the eastern Caribbean Sea. *Journal of Biogeography* 34: 1546–1558.
- Ronquist, F., y Huelsenbeck, J.P., 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19:1572–1574.
- Ronquist, F., van der Mark, M., y Huelsenbeck, J. 2009. Bayesian phylogenetic analysis using MRBAYES. En: *The Phylogenetic Handbook: a practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing* (P. Lemey, M. Salemi y A.M. Vandamme, eds) pp. 181–209. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Rozas, J., Sanchez-DelBarrio, J.C., Messeguer, X., y Rozas, R. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19(18): 2496–2497.
- Schmidt, H. A., y von Haeseler, A. 2009. Phylogenetic inference using maximumlikelihood methods. En: *The Phylogenetic Handbook: a practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing* (P. Lemey, M. Salemi y A.M. Vandamme, eds) pp. 181–209. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Seimon, T. A., Seimon, A., Daszak, P., Halloy, S., Schloegel, L., Aguilar, C., Sowell, P., Hyatt, A., Konecky, B., y Simmons, J. 2007. Upward range extension of Andean anurans

- and chytridiomycosis to extreme elevations in response to tropical deglaciation. *Global Change Biology* 13: 288–299.
- Shoo, L.P., Williams, S.E., y Hero, J.M. 2006. Detecting climate change induced range shifts: Where and how should we be looking? *Austral Ecology* 31(1): 22–29.
- Swofford, D.L. 2003. PAUP\*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony. Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, United States of America.
- Taberlet, P., Fumagalli, L., Wust-Saucy, A., y Cossons, J. 1998. Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Molecular ecology* 7(1): 453–464.
- Tajima, F. 1983. Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. *Genetics* 105:437–460.
- Templeton, A.R. 2004. Statistical phylogeography: methods of evaluating and minimizing inference errors. *Molecular Ecology* 13(4): 789–809.
- Templeton, A.R., Crandall, K.A., y Sing, F. 1992. Cladistic Analysis of Phenotypic Associations With Haplotypes Inferred From Restriction Endonuclease Mapping and DNA Sequence Data. III. Cladogram Estimation. *Genetics Society of America* 132: 619–633.
- Thorpe, R.S., Leadbeater, D.L., y Pook, C.E. 2005. Molecular clocks and geological dates: cytochrome b of *Anolis extremus* substantially contradicts dating of Barbados emergence. *Molecular ecology* 14(7): 2087–2096.

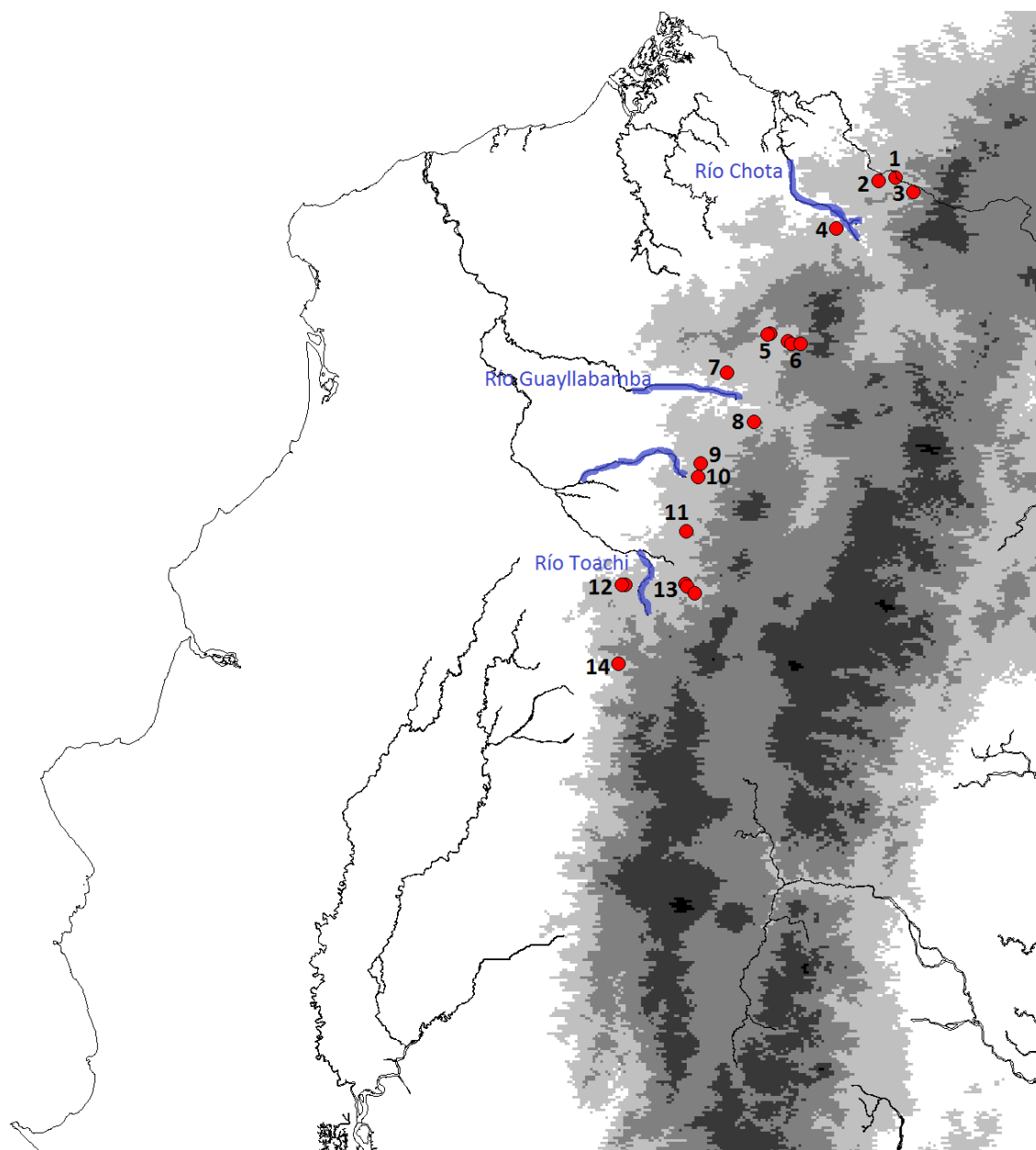


- Thuiller, W., y Pearson, R.G. 2006. Climate warming and the decline of amphibians and reptiles in Europe 33: 1712–1728.
- Torres-Carvajal, O. 2007. Phylogeny and biogeography of a large radiation of Andean lizards ( Iguania , *Stenocercus* ). Zoologica Scripta 36(7): 311–326.
- Torres-carvajal, O. 2009. Phylogenetic systematics of lizards of the genus *Stenocercus* (Squamata : Iguania ) from the northern Andes. Revista Mexicana de Biodiversidad 80: 727–740.
- Torres-Carvajal, O. 2011. Lista actualizada de las lagartijas de Ecuador con comentarios acerca de su diversidad. Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas 32(1): 119–133.
- Torres-Carvajal, O., y de Queiroz, K. 2009. Phylogeny of hoplocercine lizards (Squamata: Iguania) with estimates of relative divergence times. Molecular phylogenetics and evolution 50(1): 31–43.
- Torres-Carvajal, O., Schulte, J.A., y Cadle, J.E. 2006. Phylogenetic relationships of South American lizards of the genus *Stenocercus* (Squamata: Iguania): A new approach using a general mixture model for gene sequence data. Molecular phylogenetics and evolution 39(1): 171–85.
- Torres-Carvajal, O. y D. Salazar-Valenzuela. 2013. ReptiliaWebEcuador. Versión 2013.0. Museo de Zoología QCAZ, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. <<http://zoologia.puce.edu.ec/Vertebrados/reptiles/reptilesEcuador>>, acceso [Consulta: viernes, 19 de Febrero de 2013].

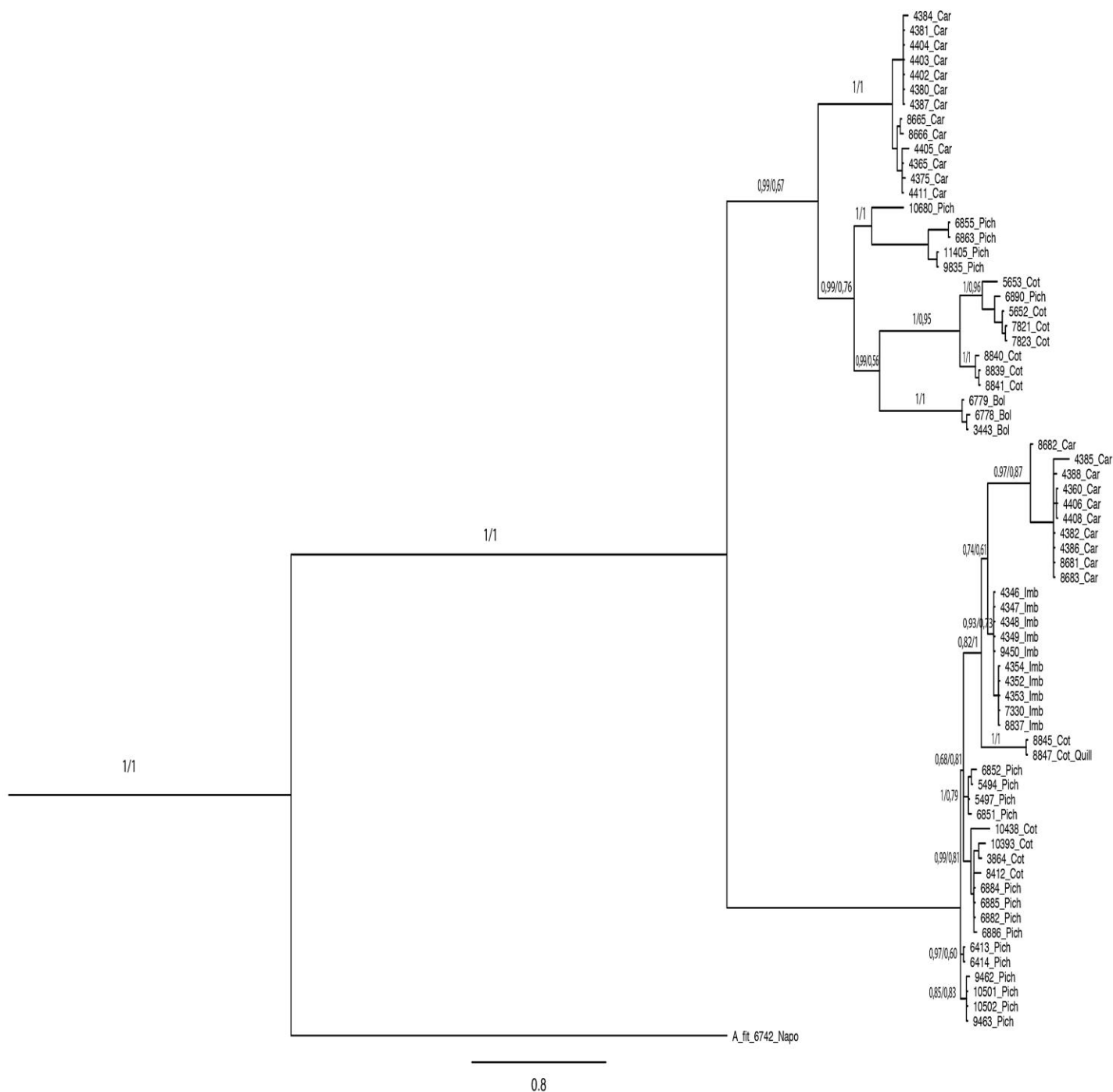
- Velasco, J., Gutierrez-Cardenas, P., y Quintero-Angel, A. 2010. A new species of *Anolis* of the *Aequatorialis* group (Squamata: Iguania) from the central Andes of Colombia. *Herpetological Journal* 20(1): 1–6.
- Werner, F. 1894. Über einige Novitäten der herpetologischen Sammlung des Wiener. *Zoologischer Anzeiger* 17: 155–157.
- Zwickl, D. J. 2006. Genetic algorithm approaches for the phylogenetic analysis of large biological sequence datasets under the maximum likelihood criterion. Ph.D. dissertation, The University of Texas at Austin.

**10.FIGURAS**

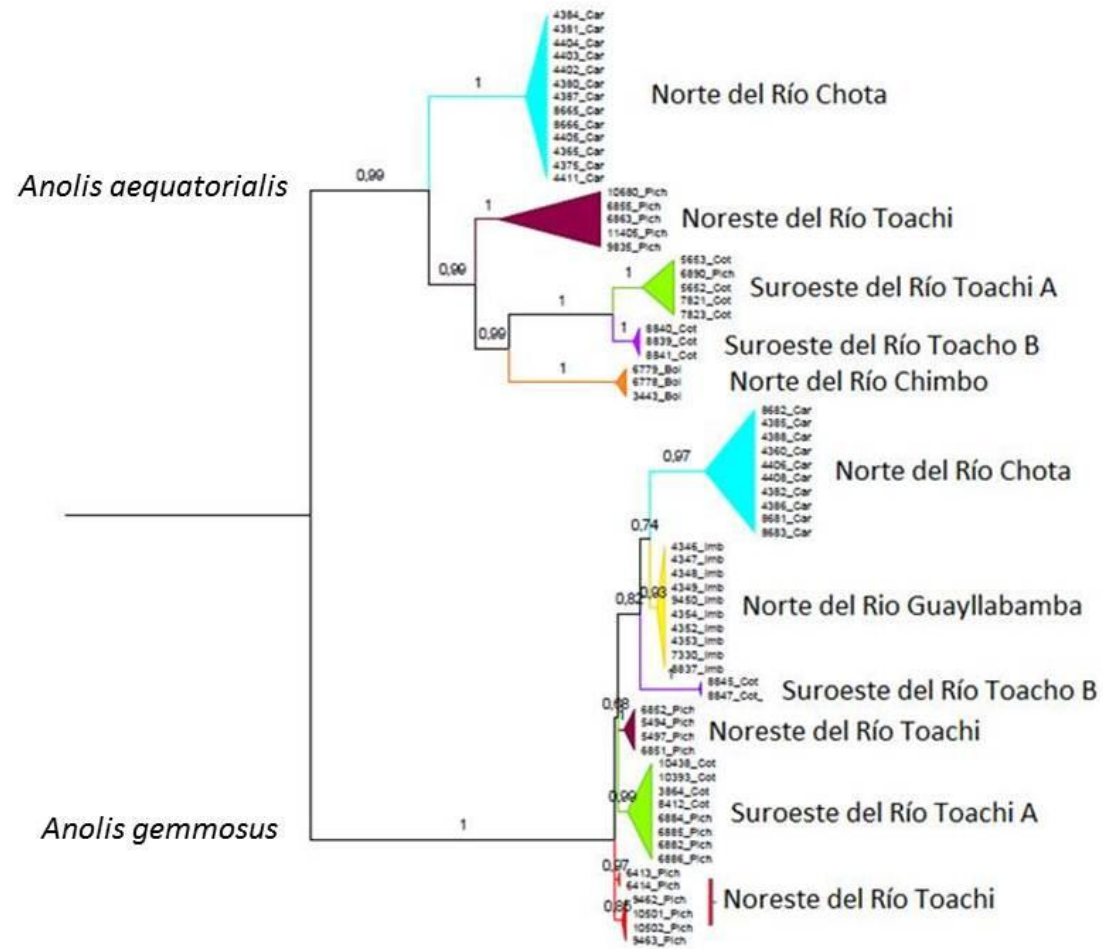
**Figura 1:** Mapa de localidades de los individuos de *Anolis aequatorialis* utilizados para los análisis filogenéticos y cronofilogenéticos, los números hacen referencia al Anexo 1. Se muestran los ríos que separan las poblaciones.



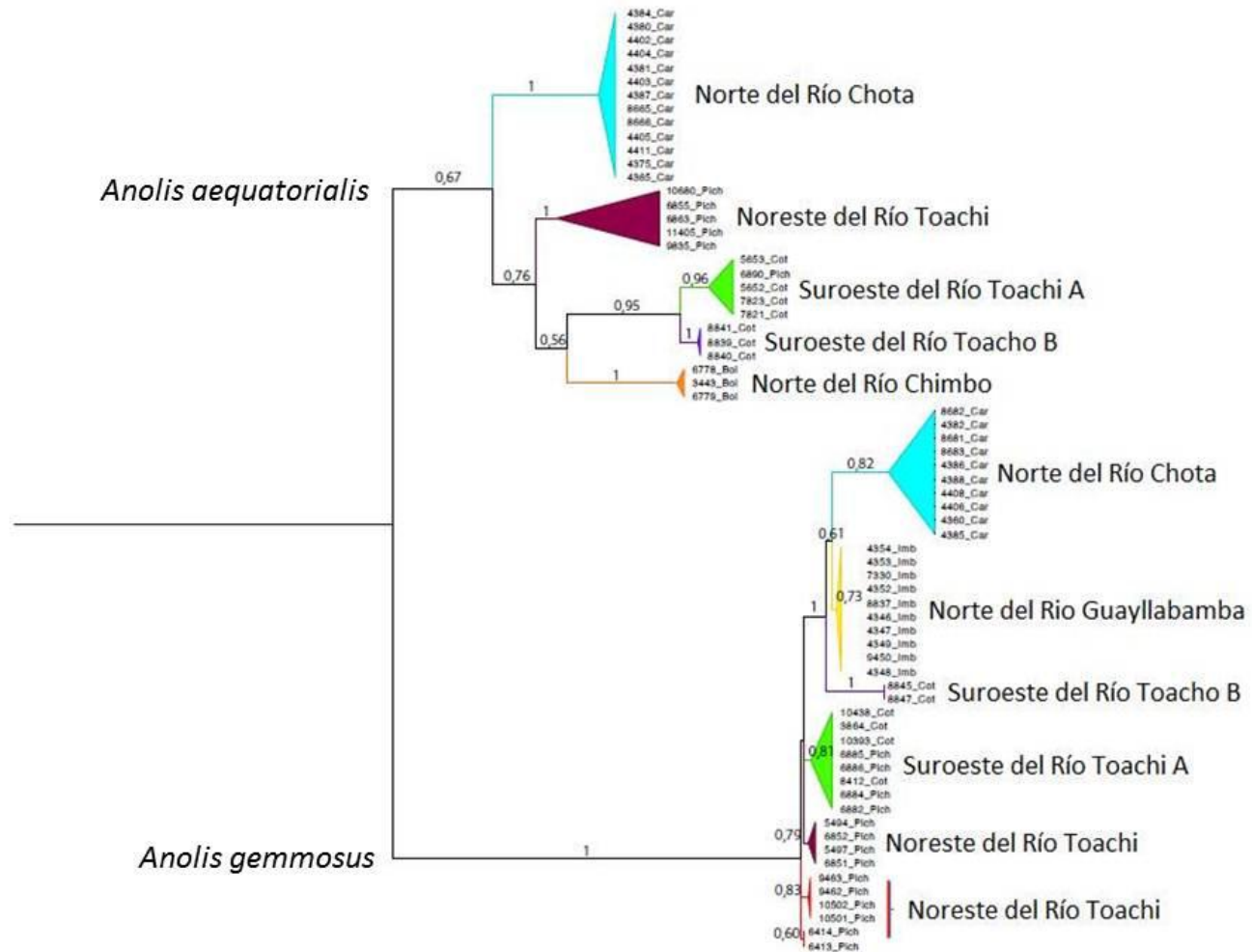
**Figura 2:** Mapa de localidades de los individuos de *Anolis gemmosus* utilizados para los análisis filogenéticos y cronofilogenéticos, los números hacen referencia al Anexo 1. Se muestran los ríos que separan las poblaciones.



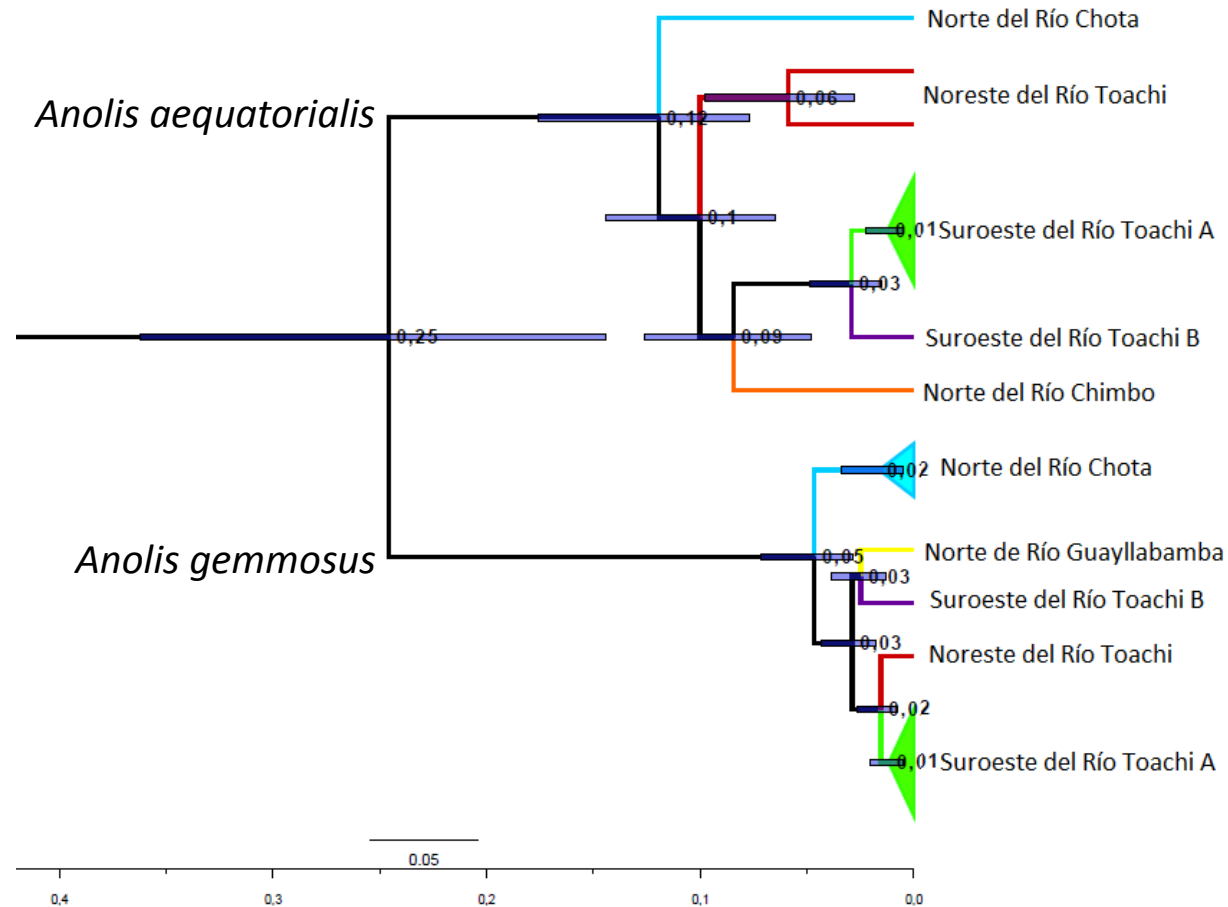
**Figura 3:** Árbol filogenético bajo criterio de Inferencia Bayesiana. Se presentan los números QCAZ de cada espécimen, el grupo externo *Anolis fitchi* y los valores de probabilidades posteriores/valores de bootstrap ya que la topología es igual. La escala representa las sustituciones por sitio.



**Figura 4:** Árbol consenso del análisis de Inferencia Bayesiana. Se presentan los valores de probabilidades posteriores como soporte de los nodos y el nombre asignado a cada clado.

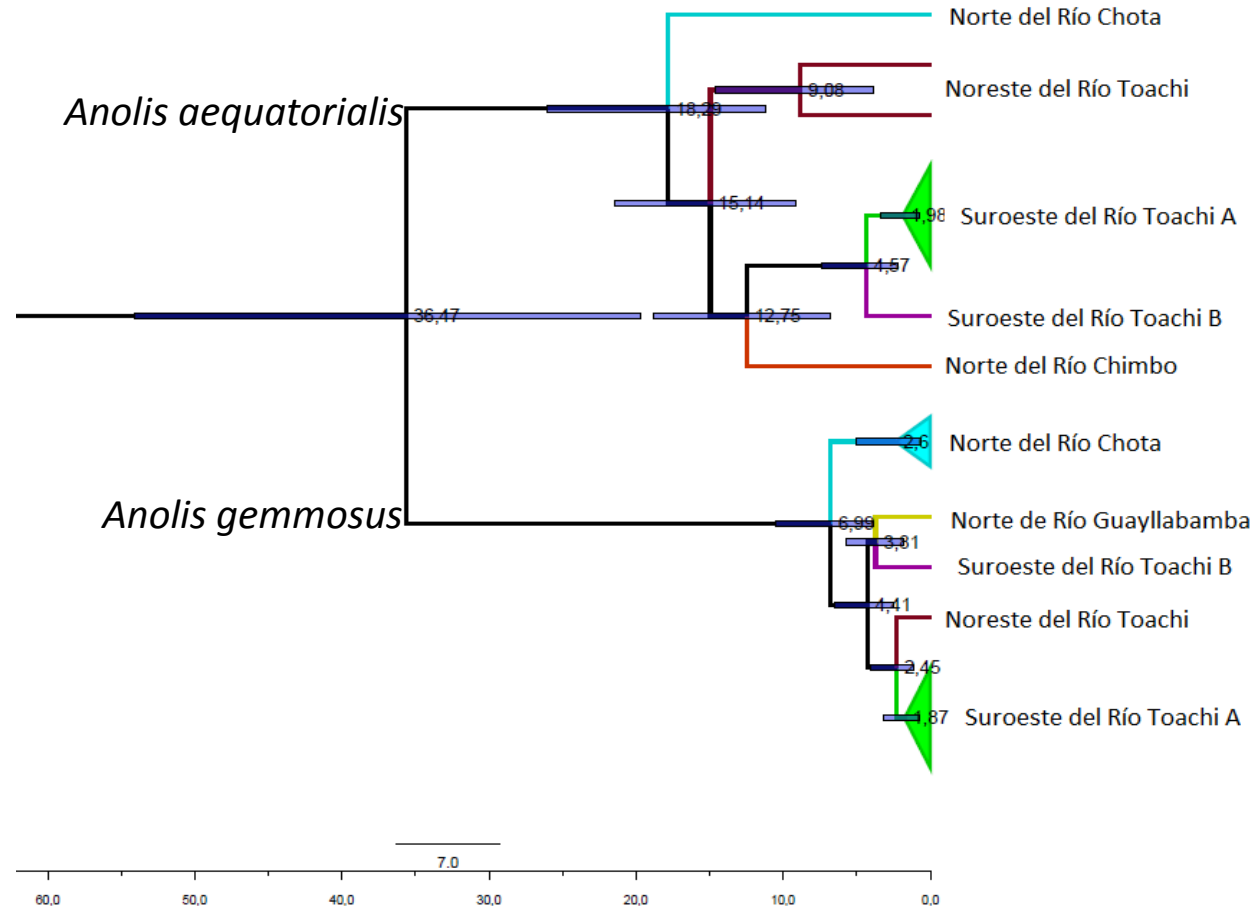


**Figura 5:** Filograma del análisis de Máxima Verosimilitud. Se presentan los valores de bootstrap de soporte de los nodos y el nombre asignado a cada clado.

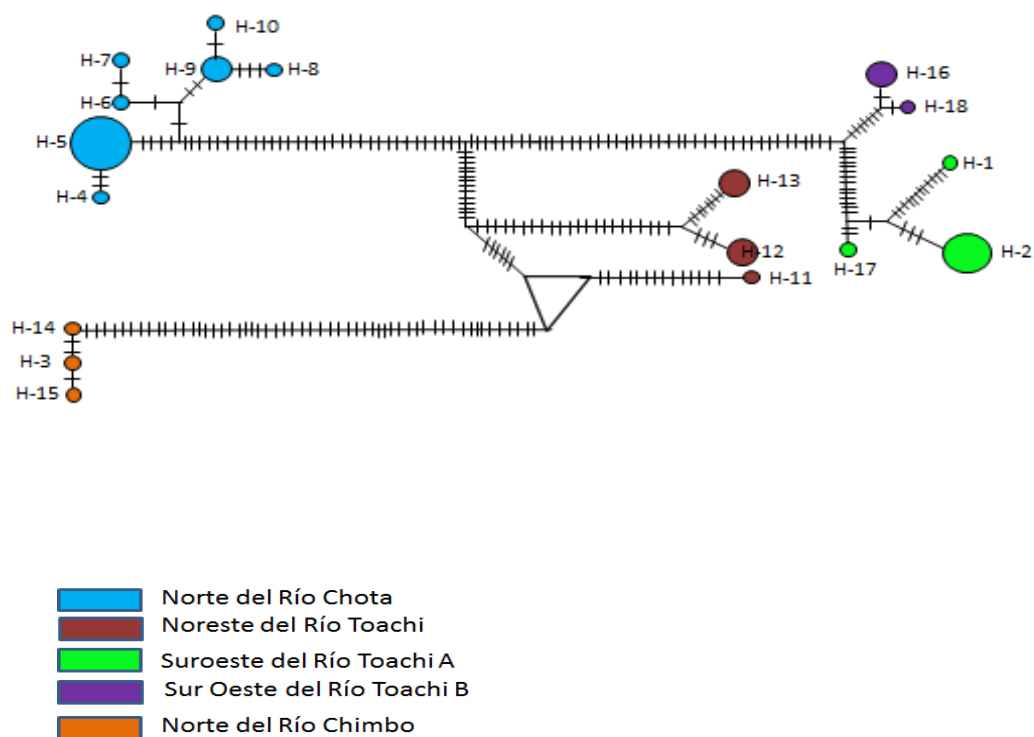


**Figura 6:** Filograma de análisis de tiempo de divergencia relativo (sin tiempo de calibración). Se presentan los valores relativos de tiempo de divergencia según la escala inferior y el nombre asignado a cada clado. Las barras representan el error de los nodos o intervalos de confianza del 95% HPD para cada tiempo de divergencia calculado.

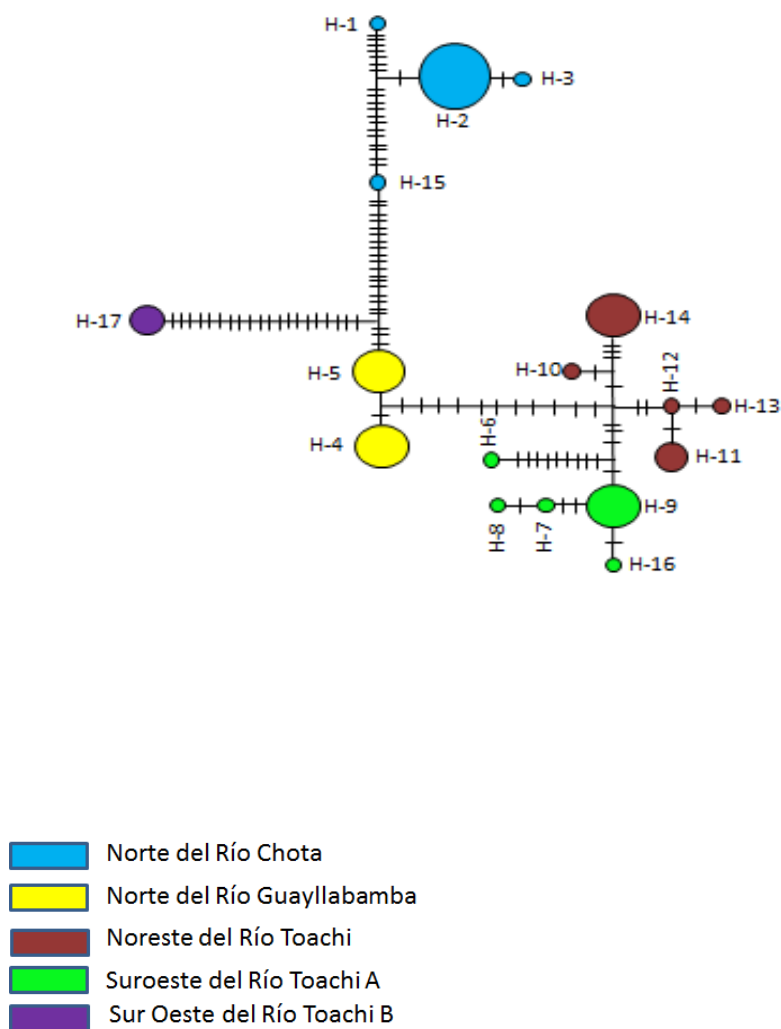




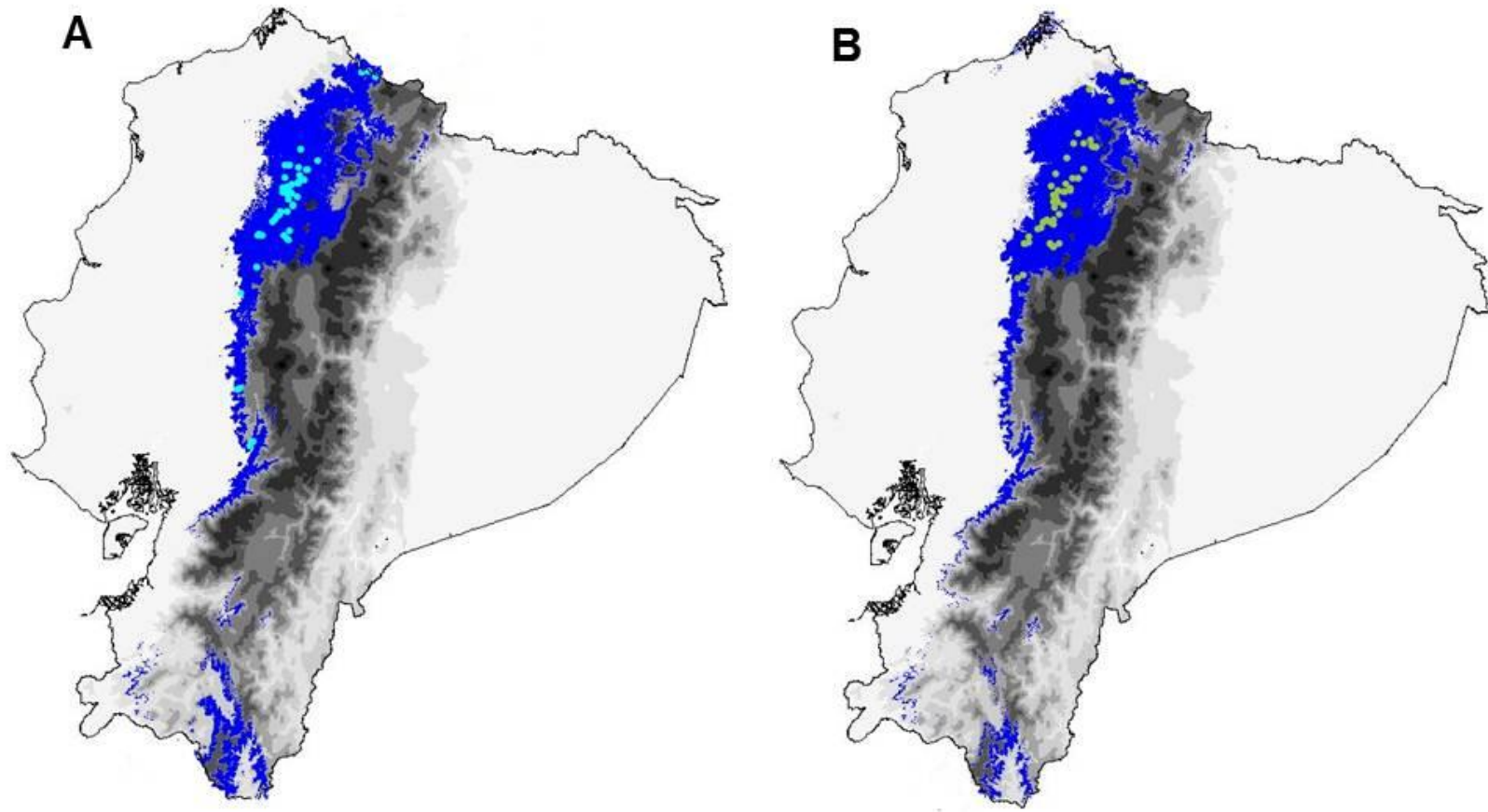
**Figura 7:** Filograma de análisis de tiempo de divergencia con la tasa de evolución del fragmento mitocondrial igual a 1,3% de cambios / millón de años (0,65% de cambios / linaje / millón de años). Se presentan los valores que representan el tiempo de divergencia en millones de años y el nombre asignado a cada clado. Las barras representan el error de los nodos o intervalos de confianza del 95% HPD para cada tiempo de divergencia calculado.



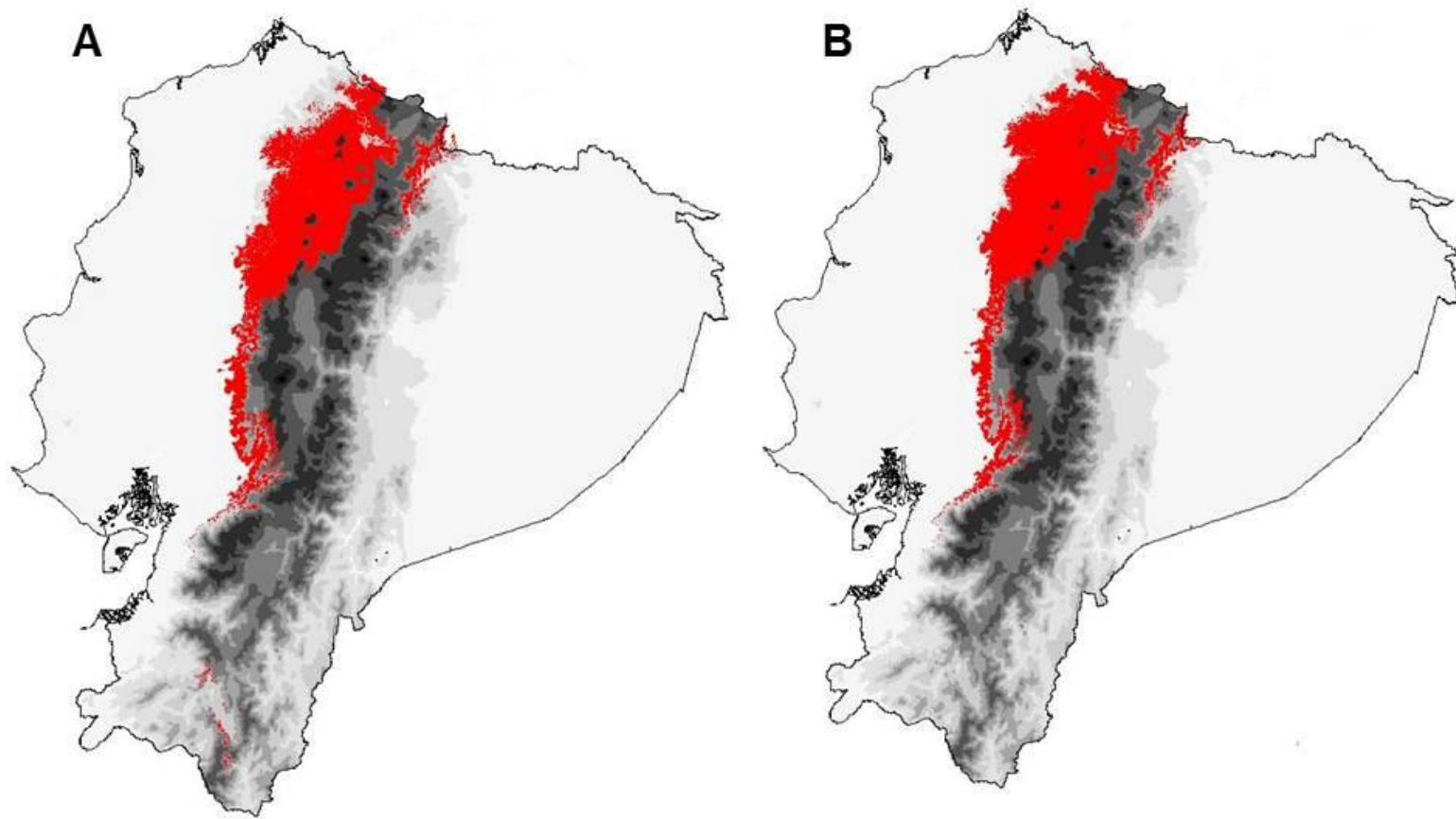
**Figura 8:** Red de haplotipos de *Anolis aequatorialis*, basada en caracteres informativos de la secuencia del gen ND2 y tRNAs. Los números corresponden al número de haplotipo mostrado en el Anexo 5 y los colores representan a los clados de la figura 4.



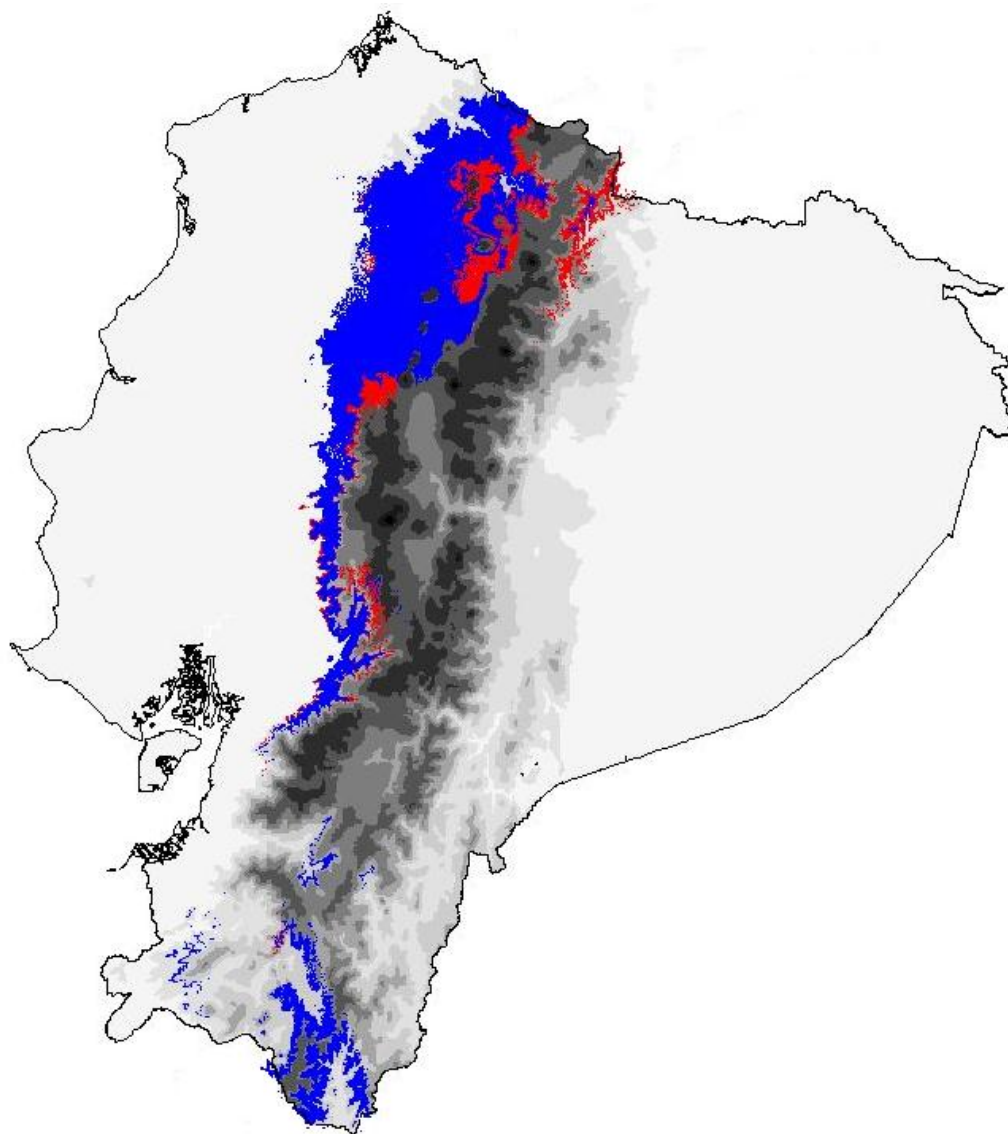
**Figura 9:** Red de haplotipos de *Anolis gemmosus*, basada en caracteres informativos de la secuencia del gen ND2 y tRNAs. Los números corresponden al número de haplotipo mostrado en el Anexo 6 y los colores representan a los clados en la figura 4.



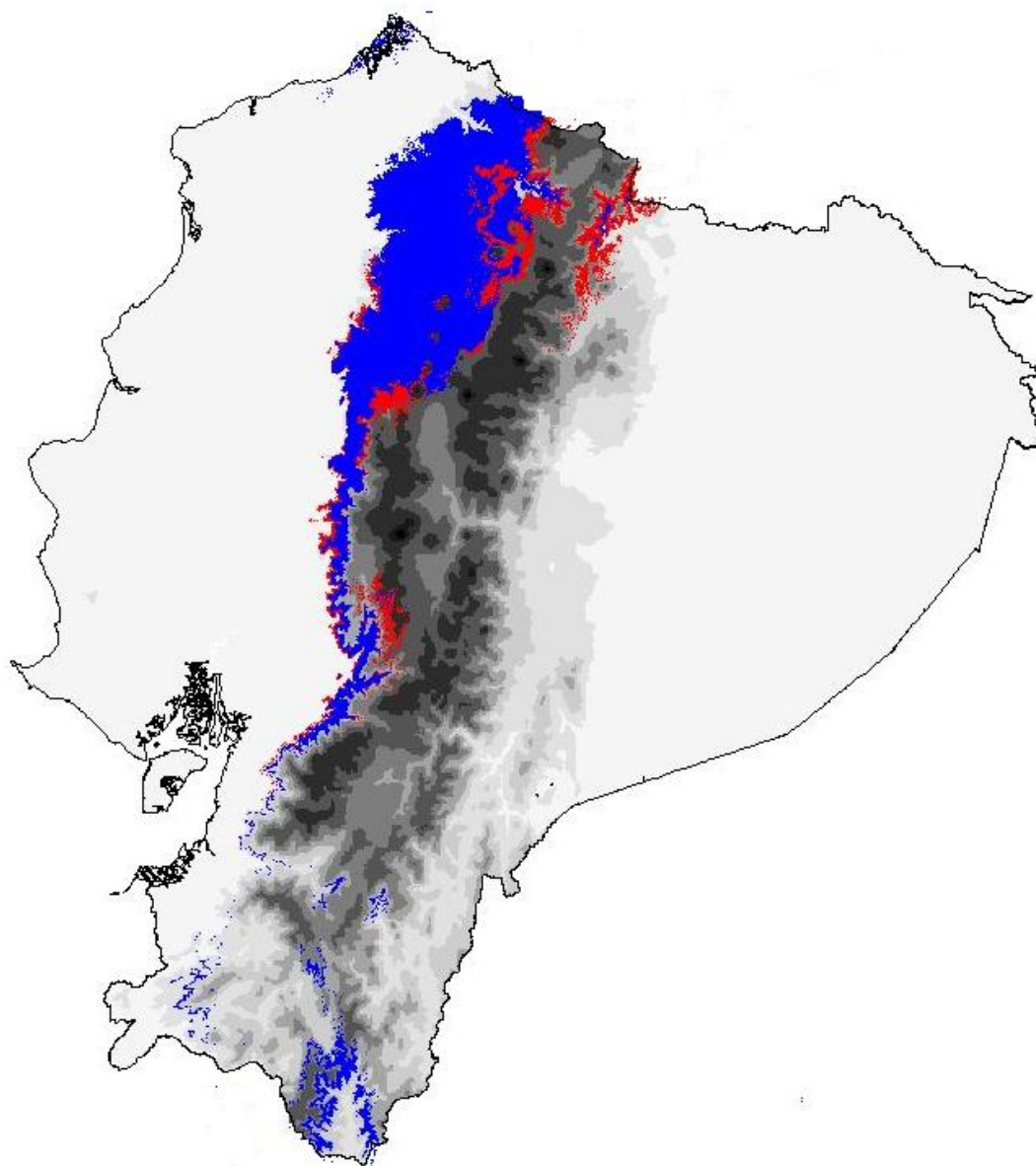
**Figura 10:** Mapas del modelamiento predictivo de hábitat al presente, en base a las 19 variables climáticas (Tabla 3), para *A. aequatorialis* (A) y *A. gemmosus* (B). Los puntos de color en cada mapa representan las localidades de presencia utilizadas en el modelo.



**Figura 11:** Mapas del modelamiento predictivo de hábitat al año 2050, en base a las 19 variables climáticas (Tabla 3) y el escenario de emisión de gases de efecto invernadero 2A2. **(A)** Modelo de *A. aequatorialis* y **(B)** Modelo de *A. gemmosus*.



**Figura 12:** Mapa de *Anolis aequatorialis* donde se muestra el modelo presente y futuro, se observa el cambio de la distribución potencial. Se muestra en azul el modelo presente y en rojo el modelo al año 2050.



**Figura 13:** Mapa de *Anolis gemmosus* donde se muestra el modelo presente y futuro, se observa el cambio de la distribución potencial. Se muestra en azul el modelo presente y en rojo el modelo al año 2050.

## 11.TABLAS

**Tabla1:** Regiones de ADN y cebadores utilizados en este estudio.

Gen	Cebadores	Secuencia 5'-3'	Fuente	Dirección	Protocolo de amplificación
<b>Parte1</b>					<b>12s16s42md</b>
ND1	ND1.b	CGATTCCGATATGACCARCT	Kumazawa y Nishida (1993)	Derecho	1 ciclo: 2min 94°C, 30s 42°C, 1min 72°C 5 ciclos: 30s 94°C, 30s 42°C, 1min 72°C
ND2	ND2r.6	ATTTTTCGTAGTTGGGTTTGRTT	Macey et al. (1997)	Reverso	22 ciclos: 30s 94°C, 30s 50°C, 1min 72°C 1 ciclo: 5min 72°C
<b>Parte 2</b>					<b>RepND1CO1b25</b>
ND2	L4758	TCTACAACCCCYTCCCACATTC		Derecho	1 ciclo: 2min 94°C 25 ciclos: 30s 94°C, 30s 52°C, 2min 30s 72°C
CO1	CO1r.1a	AGRGTGCCAATGTCTTTGTG	Macey et al. (1997)	Reverso	1 ciclo: 10min 72°C



**Tabla 2:** Estrategias de partición del fragmento de ADN (ND2 y tRNAs) utilizadas en los análisis y modelos de evolución respectivos.

<b>Estrategia de partición</b>	<b>Particiones</b>	<b>Modelo</b>	<b>Criterio</b>	<b>I</b>	<b>G</b>
<b>1</b> (sin partición)	tRNAs-ND2-OL	TIM1+I+G	AIC	0,55	1,121
<b>2</b> (3 particiones)	tRNAs	TPM2uf+G	AIC	0	0,137
	ND2	GTR+I+G	AIC	0,53	1,844
	OL	k80	AIC	0	0
<b>3</b> (5 particiones)	tRNAs	TPM2uf+G	AIC	0	0,137
	ND2 posición1	TIM1+I	AIC	0,664	0
	ND2 posición2	TRN+I+G	AIC	0,492	0,295
	ND2 posición3	GTR+I	AIC	0,094	0
	OL	k80	AIC	0	0

**Tabla 3:** 19 variables climáticas obtenidas de Worldclim.

Número	Descripción
BIO1	Temperatura media anual
BIO2	Rango de temperatura mensual
BIO3	Isotermalidad
BIO4	Estacionalidad de temperatura
BIO5	Temperatura máxima del mes más caliente
BIO6	Temperatura mínima del mes más frío
BIO7	Rango de temperatura anual
BIO8	Temperatura media del cuatrimestre más húmedo
BIO9	Temperatura media del cuatrimestre más seco
BIO10	Temperatura media del cuatrimestre más cálido
BIO11	Temperatura media del cuatrimestre más frío
BIO12	Precipitación anual
BIO13	Precipitación del mes más húmedo
BIO14	Precipitación del mes más seco
BIO15	Estacionalidad de precipitación
BIO16	Precipitación del cuatrimestre más húmedo
BIO17	Precipitación del cuatrimestre más seco
BIO18	Precipitación del cuatrimestre más cálido
BIO19	Precipitación del cuatrimestre más frío

**Tabla 4:** Estimación del factor bayesiano de las estrategias de partición (ver Tabla 2) del fragmento de ADN utilizado en los análisis filogenéticos. 1: sin particiones 2: tres particiones y 3: cinco particiones. Se muestra Ln P(model/data), E.S (error estándar) y los valores de factor bayesiano. Los valores de factor bayesiano para la estrategia >10 lo que indica un buen soporte y el valor más alto fue para la estrategia de cinco particiones (color rojo).

Estrategia de partición	Ln P (model /data)	E.S	1	2	3
1 (sin partición)	-5951,779	+/-0,224	-	-63,138	-279,813
2 (3 particiones)	-5888,642	+/-0,301	63,138	-	-216,676
3 (5 particiones)	-5671,966	+/-0,191	<b>279,813</b>	<b>216,676</b>	-

**Tabla 5:** Resultado del AMOVA para las poblaciones de *Anolis aequatorialis*.

Fuente de variación	d.f	Suma de cuadrados	Componentes de Varianza	Porcentaje de variación
Entre poblaciones	3	724,296	35,77355 Va	86,87
Dentro de poblaciones	25	135,221	5,40885 Vb	13,13
Total	28	859,517	41,18239	
Índice de fijación	FST:	0,86866		
	P:	<b>0.000 **</b>		

\*\* Altamente Significativo

**Tabla 6:** Resultado del AMOVA para las poblaciones de *Anolis gemmosus*.

Fuente de variación	d.f	Suma de cuadrados	Componentes de Varianza	Porcentaje de variación
Entre poblaciones	12	12,85	0,28892 Va	59.77
Dentro de poblaciones	27	5,25	0,19444 Vb	40,23
Total	39	18,1	0,48336	
Índice de fijación	FST:	0,59773		
	P:	<b>0.000 **</b>		

\*\* Altamente Significativo

**Tabla 7:** Distancias genéticas de las poblaciones de *Anolis gemmosus*, estimadas en base al gen ND2.

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>1</b> Norte del Río Chota	0-0,01				
<b>2</b> Suroeste del Río Toachi B	0,041-0.045	0			
<b>3</b> Suroeste del Río Toachi A	0,035-0,044	0,028-0,037	0-0,01		
<b>4</b> Norte del Río Guayllabamba	0,033-0,045	0,023-0,024	0,015-0,022	0	
<b>5</b> Noreste del Río Toachi	0,030-0,035	0,028-0,29	0,006-0,015	0,013-0,029	0-0,010

**Tabla 8:** Distancias genéticas de las poblaciones de *Anolis aequatorialis*, estimadas en base al gen ND2.

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>1</b> Norte del Río Chota	0-0,009				
<b>2</b> Suroeste del Río Toachi B	0,092-0,103	0-0,001			
<b>3</b> Suroeste del Río Toachi A	0,107-0,118	0,024-0,027	0-0,015		
<b>4</b> Norte del Río Chimbo	0,091-0,103	0,092-0,10	0,096-0,113	0,001-0,003	
<b>5</b> Noreste del Río Toachi	0-0,085	0,082-0,096	0,092-0,109	0,077-0,096	0-0,048

## 12. ANEXOS

**Anexo1:** Lista de individuos empleados en el estudio. Se muestra el número de colección (QCAZ), provincia, localidad y coordenadas. Los números de las localidades corresponden a los números de las figuras 1 y 2.

# Mapa	QCAZ	Especie	Provincia	Localidad	Coordenadas	
					Latitud	Longitud
1	4402	<i>A. aequatorialis</i>	Carchi	Maldonado, Sendero Ecológico Teldibi	0,9130100	-78,107820
	4403	<i>A. aequatorialis</i>	Carchi	Maldonado, Sendero Ecológico Teldibi	0,9130100	-78,107820
	4404	<i>A. aequatorialis</i>	Carchi	Maldonado, Sendero Ecológico Teldibi	0,9130100	-78,107820
	4405	<i>A. aequatorialis</i>	Carchi	Maldonado, Sendero Ecológico Teldibi	0,9130100	-78,107820
	4411	<i>A. aequatorialis</i>	Carchi	Maldonado, Sendero Ecológico Teldibi	0,9130100	-78,107820
	4365	<i>A. aequatorialis</i>	Carchi	Maldonado, Sendero Ecológico Teldibi	0,9130100	-78,107820
2	4384	<i>A. aequatorialis</i>	Carchi	Río San Pablo, cerca a Chical	0,9030200	-78,162840
	4380	<i>A. aequatorialis</i>	Carchi	Río San Pablo, cerca a Chical	0,9030200	-78,162840
	4381	<i>A. aequatorialis</i>	Carchi	Río San Pablo, cerca a Chical	0,9030200	-78,162840
	4387	<i>A. aequatorialis</i>	Carchi	Río San Pablo, cerca a Chical	0,9030200	-78,162840
	4375	<i>A. aequatorialis</i>	Carchi	Río San Pablo, cerca a Chical	0,9028900	-78,163590
3	8665	<i>A. aequatorialis</i>	Carchi	Finca de Aníbal Pozo, Chilma Bajo	0,8653585	-78,049354
	8666	<i>A. aequatorialis</i>	Carchi	Finca de Aníbal Pozo, Chilma Bajo	0,8653585	-78,049354
4	FHGO6757	<i>A. aequatorialis</i>	Imbabura	Urbina	0,745861	-78,3008
	FHGO6815	<i>A. aequatorialis</i>	Imbabura	Urbina	0,745861	-78,3008
5	MECN3528	<i>A. aequatorialis</i>	Imbabura	Junin	0,2754	-78,660300
6	10680	<i>A. aequatorialis</i>	Pichincha	Santa Lucía de Nanegal	0,11275	-78,603361
	6863	<i>A. aequatorialis</i>	Pichincha	Mindo Garden, Senderos Interpretativos	-0,069017	-78,801667
	6855	<i>A. aequatorialis</i>	Pichincha	Mindo Garden	-0,0716170	-78,758133
7	9835	<i>A. aequatorialis</i>	SDT	Palmeras, Estación Científica Río Guajlito	-0,223333	-78,821675
	11405	<i>A. aequatorialis</i>	SDT	Palmeras, Estación Científica Río Guajlito	-0,22676	-78,82171



8	7821	<i>A. aequatorialis</i>	límite Cotopaxi/SDT	Naranjito, Reserva Bosque Integral Otonga (RBIO)	-0,4147830	-79,000733
	7823	<i>A. aequatorialis</i>	límite Cotopaxi/SDT	Naranjito, Reserva Bosque Integral Otonga (RBIO)	-0,4147830	-79,000733
9	5653	<i>A. aequatorialis</i>	Cotopaxi	Sigchos	-0,4237100	-78,967650
	5652	<i>A. aequatorialis</i>	Cotopaxi	Sigchos	-0,4237100	-78,967650
	6890	<i>A. aequatorialis</i>	Pichincha	Río Chisinche	-0,4480000	-78,764167
10	8839	<i>A. aequatorialis</i>	Cotopaxi	A 18,2 km de Quillutuña, vía a Pucayacu	-0,6784330	-79,015650
	8841	<i>A. aequatorialis</i>	Cotopaxi	A 18,2 km de Quillutuña, vía a Pucayacu	-0,6784330	-79,015650
	8840	<i>A. aequatorialis</i>	Cotopaxi	A 18,2 km de Quillutuña, vía a Pucayacu	-0,6784330	-79,015650
11	3443	<i>A. aequatorialis</i>	Bolívar	Telimbela (río arriba)	-1,6584400	-79,157150
	6779	<i>A. aequatorialis</i>	Bolívar	Telimbela, Escuela Elisa Mariño de Carvajal	-1,6658570	-79,172096
	6778	<i>A. aequatorialis</i>	Bolívar	Telimbela, Escuela Elisa Mariño de Carvajal	-1,6658570	-79,172096
1	4408	<i>A. gemmosus</i>	Carchi	Maldonado, Sendero Ecológico Teldibi	0,9130100	-78,107820
	4406	<i>A. gemmosus</i>	Carchi	Maldonado, Sendero Ecológico Teldibi	0,9130100	-78,107820
	4360	<i>A. gemmosus</i>	Carchi	Maldonado, Sendero Ecológico Teldibi	0,9130100	-78,107820
2	4385	<i>A. gemmosus</i>	Carchi	Río San Pablo, cerca a Chical	0,9030200	-78,162840
	4382	<i>A. gemmosus</i>	Carchi	Río San Pablo, cerca a Chical	0,9030200	-78,162840
	4386	<i>A. gemmosus</i>	Carchi	Río San Pablo, cerca a Chical	0,9030200	-78,162840
	4388	<i>A. gemmosus</i>	Carchi	Río San Pablo, cerca a Chical	0,9030200	-78,162840
3	8681	<i>A. gemmosus</i>	Carchi	Finca de Aníbal Pozo, Chilma Bajo	0,8653585	-78,049354
	8683	<i>A. gemmosus</i>	Carchi	Finca de Aníbal Pozo, Chilma Bajo	0,8653585	-78,049354
	8682	<i>A. gemmosus</i>	Carchi	Finca de Aníbal Pozo, Chilma Bajo	0,8653585	-78,049354
4	FHGO6816	<i>A. gemmosus</i>	Imbabura	Urbina	0,745861	-78,3008
5	4352	<i>A. gemmosus</i>	Imbabura	6 de Julio de Cuellaje	0,4010700	-78,518100
	4349	<i>A. gemmosus</i>	Imbabura	6 de Julio de Cuellaje	0,4010700	-78,518100
	4346	<i>A. gemmosus</i>	Imbabura	6 de Julio de Cuellaje	0,4010700	-78,518100
	4347	<i>A. gemmosus</i>	Imbabura	6 de Julio de Cuellaje	0,4010700	-78,518100
	4348	<i>A. gemmosus</i>	Imbabura	6 de Julio de Cuellaje	0,4010700	-78,518100
	9450	<i>A. gemmosus</i>	Imbabura	6 de Julio de Cuellaje	0,4001900	-78,525020

<b>6</b>	4353	<i>A. gemmosus</i>	Imbabura	Reserva Alto Choco	0,3760300	-78,458570
	4354	<i>A. gemmosus</i>	Imbabura	Reserva Alto Choco	0,3760300	-78,458570
	7330	<i>A. gemmosus</i>	Imbabura	Reserva Alto Choco	0,3693900	-78,449420
	8837	<i>A. gemmosus</i>	Imbabura	Reserva Alto Choco	0,3676950	-78,417084
<b>7</b>	MECN3539	<i>A. gemmosus</i>	Imbabura	Junin	0,2754	-78,660300
<b>8</b>	9462	<i>A. gemmosus</i>	Pichincha	Nanegalito, Finca El Cedral	0,1141000	-78,570070
	9463	<i>A. gemmosus</i>	Pichincha	Nanegalito, Finca El Cedral	0,1141000	-78,570070
	10501	<i>A. gemmosus</i>	Pichincha	Nanegalito, Finca El Cedral	0,1140000	-78,569930
	10502	<i>A. gemmosus</i>	Pichincha	Nanegalito, Finca El Cedral	0,1140000	-78,569930
<b>9</b>	5494	<i>A. gemmosus</i>	Pichincha	Pachijal (vía la Nanegalito los Bancos)	-0,0234670	-78,746750
	5497	<i>A. gemmosus</i>	Pichincha	Pachijal (vía la Nanegalito los Bancos)	-0,0234670	-78,746750
<b>10</b>	6852	<i>A. gemmosus</i>	Pichincha	Mindo Garden	-0,0675330	-78,753500
	6851	<i>A. gemmosus</i>	Pichincha	Mindo Garden	-0,0675330	-78,753500
<b>11</b>	6413	<i>A. gemmosus</i>	SDT	Palmeras, Estación Científica Río Guajlito	-0,2440000	-78,794000
	6414	<i>A. gemmosus</i>	SDT	Palmeras, Estación Científica Río Guajlito	-0,2440000	-78,794000
<b>12</b>	8412	<i>A. gemmosus</i>	Pichincha	Naranjito, Reserva Bosque Integral Otonga (RBIO)	-0,4186940	-78,795056
	10393	<i>A. gemmosus</i>	Cotopaxi	Naranjito, Reserva Bosque Integral Otonga (RBIO)	-0,4193280	-78,993960
	10438	<i>A. gemmosus</i>	Cotopaxi	Naranjito, Reserva Bosque Integral Otonga (RBIO)	-0,4194000	-79,003450
	3864	<i>A. gemmosus</i>	Cotopaxi	Naranjito, Reserva Bosque Integral Otonga (RBIO)	-0,4194000	-79,003450
<b>13</b>	6882	<i>A. gemmosus</i>	Pichincha	Tandapi	-0,4247170	-78,789050
	6884	<i>A. gemmosus</i>	Pichincha	Río Chisinche	-0,4480000	-78,764233
	6885	<i>A. gemmosus</i>	Pichincha	Río Chisinche	-0,4486000	-78,764417
	6886	<i>A. gemmosus</i>	Pichincha	Río Chisinche	-0,4486000	-78,764417
<b>14</b>	8845	<i>A. gemmosus</i>	Cotopaxi	A 18,2 km de Quillutuña, vía a Pucayacu	-0,6784330	-79,015650
	8847	<i>A. gemmosus</i>	Cotopaxi	A 18,2 km de Quillutuña, vía a Pucayacu	-0,6784330	-79,015650

**Anexo 2:** Protocolo de extracción de ADN usando Tiocinato de Guanidina**Metodología****Lisis celular**

1. Calentar la solución de lisis a 55°C hasta que el precipitado vuelva a estar en solución.
2. Colocar 10 mg de tejido macerado en un tubo de 1.5ml que contenga 300µl de la solución de lisis de células.
3. Añadir 3-5µl e proteinasa K (20mg/ml), dar un vórtex rápido e incubar de 3-6 horas (dejarlo durante toda la noche si fuera necesario) a 55°C hasta que el tejido se haya digerido.
4. Durante el proceso de lisis, las muestras deben ser agitadas por lo menos cada 30 minutos.
5. Dar un vórtex suave para homogenizar.
6. Enfriar las muestras a temperatura ambiente.

**Precipitación proteica**

1. Añadir 100µl de Solución de precipitación de proteínas en cada tubo con células lisadas y dar un vórtex de 10-20 segundos para mezclar el contenido.
2. Centrifugar a una velocidad de 13.000 rpm durante 10 minutos.
3. Trasladar el sobrenadante, que contiene ADN a un tubo nuevo de 1.5ml previamente rotulado. El pellet formado en el fondo del tubo contiene proteínas y es descartado.

**Precipitación de ADN**

1. Añadir 300µl de Isopropanol frío (-20°C) y mezclarlo invirtiendo el tubo varias veces.
2. Centrifugar a una velocidad de 13.000 rpm durante 10 minutos.
3. Descartar el sobrenadante con mucho cuidado para no perder el pellet, que en este caso contiene el ADN.
4. Añadir 300µl de etanol 70% e invertir varias veces el tubo para lavar el pellet de ADN.
5. Centrifugar a una velocidad de 13.000 rpm durante 10 minutos.
6. Descartar una vez más el sobrenadante.
7. Para evitar los residuos de etanol en el tubo, dejarlo con la tapa abierta durante una hora aproximadamente de manera que se evapore, teniendo cuidado de que el pellet no se deshidrate demasiado.

### **Hidratación de ADN y almacenamiento**

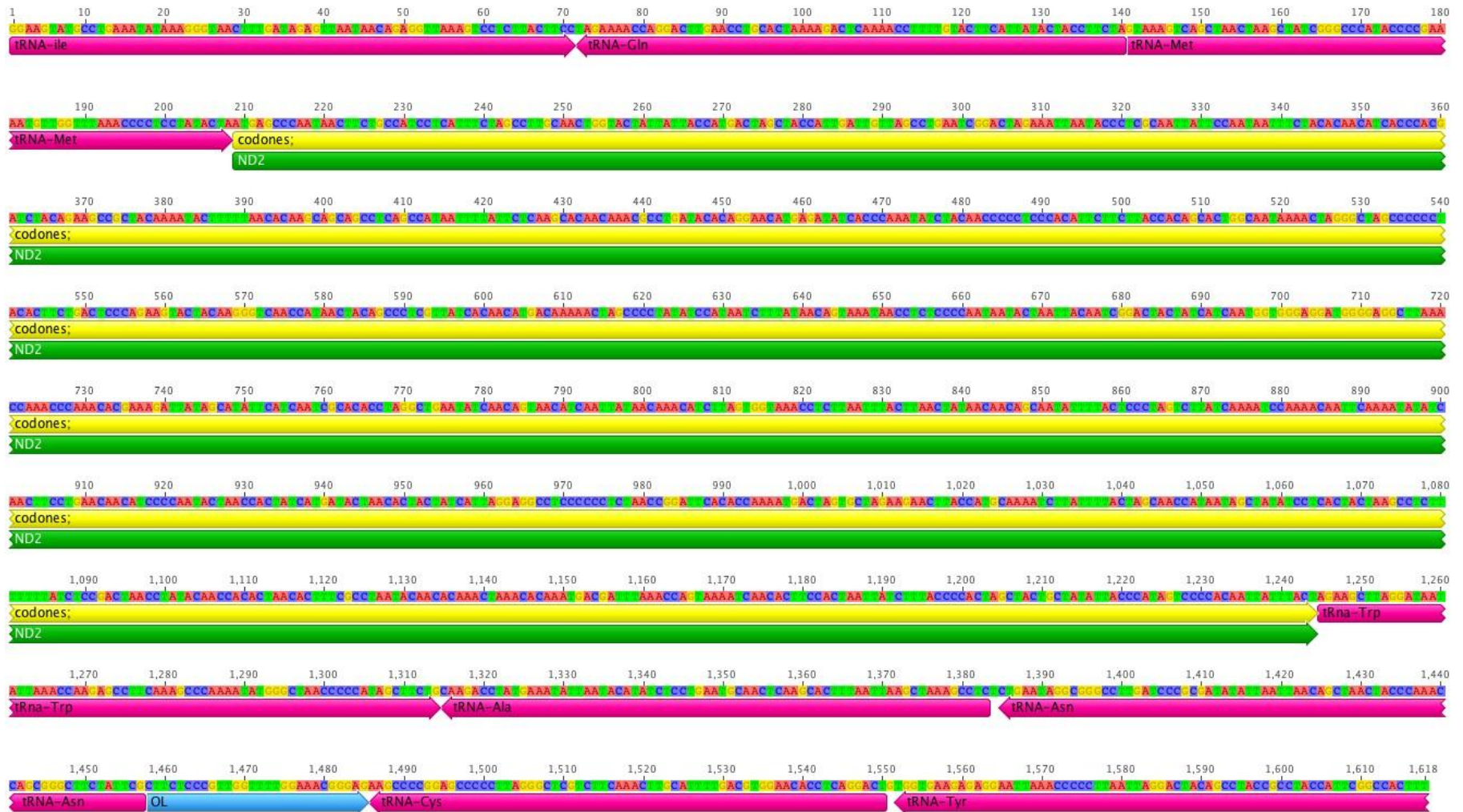
1. Añadir 50µl de 10mM TrisCl, pH 8.0, Resuspender el ADN dando golpes suaves a la base del tubo.
2. Almacenar hasta el día siguiente a -20°C.

**Anexo 3:** Localidades de presencia utilizadas para el Modelamiento de nicho presente y futuro.

Especie	Coordenadas		Especie	Coordenadas	
	Longitud	Latitud		Longitud	Latitud
<i>A. gemmosus</i>	-78,107820	0,913010	<i>A. aequatorialis</i>	-78,766010	-0,028770
<i>A. gemmosus</i>	-78,162840	0,903020	<i>A. aequatorialis</i>	-78,754230	-0,073350
<i>A. gemmosus</i>	-78,049354	0,865359	<i>A. aequatorialis</i>	-78,821770	-0,230620
<i>A. gemmosus</i>	-78,300800	0,745861	<i>A. aequatorialis</i>	-78,107820	0,913010
<i>A. gemmosus</i>	-78,518100	0,401070	<i>A. aequatorialis</i>	-78,757240	-0,043930
<i>A. gemmosus</i>	-78,458570	0,376030	<i>A. aequatorialis</i>	-78,733810	-0,006150
<i>A. gemmosus</i>	-78,449420	0,369390	<i>A. aequatorialis</i>	-78,160670	0,904080
<i>A. gemmosus</i>	-78,417084	0,367695	<i>A. aequatorialis</i>	-78,768170	-0,024620
<i>A. gemmosus</i>	-78,660300	0,275400	<i>A. aequatorialis</i>	-79,003330	-0,419440
<i>A. gemmosus</i>	-78,570070	0,114100	<i>A. aequatorialis</i>	-78,783300	0,150000
<i>A. gemmosus</i>	-78,569930	0,114000	<i>A. aequatorialis</i>	-78,867905	-0,289578
<i>A. gemmosus</i>	-78,746750	-0,234670	<i>A. aequatorialis</i>	-78,797200	-0,415220
<i>A. gemmosus</i>	-78,753500	-0,675330	<i>A. aequatorialis</i>	-78,772330	-0,050950
<i>A. gemmosus</i>	-78,794000	-0,244000	<i>A. aequatorialis</i>	-79,000000	-0,419440
<i>A. gemmosus</i>	-78,795056	-0,418694	<i>A. aequatorialis</i>	-78,674000	0,006000
<i>A. gemmosus</i>	-78,993960	-0,419328	<i>A. aequatorialis</i>	-78,766780	-0,080890
<i>A. gemmosus</i>	-79,003450	-0,419400	<i>A. aequatorialis</i>	-78,689323	-0,108796
<i>A. gemmosus</i>	-78,789050	-0,424717	<i>A. aequatorialis</i>	-79,170130	-1,663350
<i>A. gemmosus</i>	-78,764417	-0,448600	<i>A. aequatorialis</i>	-78,731944	-0,078056
<i>A. gemmosus</i>	-79,015650	-0,678433	<i>A. aequatorialis</i>	-79,074710	-2,122980
<i>A. gemmosus</i>	-78,471000	0,834000	<i>A. aequatorialis</i>	-78,048200	0,869120
<i>A. gemmosus</i>	-78,731944	-0,078056	<i>A. aequatorialis</i>	-79,015650	-0,678433
<i>A. gemmosus</i>	-78,162010	0,903270	<i>A. aequatorialis</i>	-78,756170	-0,031160
<i>A. gemmosus</i>	-78,765980	-0,028880	<i>A. aequatorialis</i>	-78,611389	0,113222
<i>A. gemmosus</i>	-78,753560	-0,043550	<i>A. aequatorialis</i>	-78,784640	0,046260
<i>A. gemmosus</i>	-78,754230	-0,073350	<i>A. aequatorialis</i>	-78,516662	0,183333
<i>A. gemmosus</i>	-78,758850	-0,023870	<i>A. aequatorialis</i>	-78,632077	0,027570
<i>A. gemmosus</i>	-78,821660	-0,230700	<i>A. aequatorialis</i>	-78,684390	0,005441
<i>A. gemmosus</i>	-78,764290	-0,078370	<i>A. aequatorialis</i>	-78,718869	-0,180730
<i>A. gemmosus</i>	-78,784640	0,046260	<i>A. aequatorialis</i>	-78,754371	-0,128906
<i>A. gemmosus</i>	-78,516662	0,183333	<i>A. aequatorialis</i>	-78,162010	0,903270
<i>A. gemmosus</i>	-78,632077	0,027570	<i>A. aequatorialis</i>	-78,750000	0,150000
<i>A. gemmosus</i>	-78,684390	0,005440	<i>A. aequatorialis</i>	-78,680278	0,127222
<i>A. gemmosus</i>	-78,718869	-0,180730	<i>A. aequatorialis</i>	-78,765000	-0,228330
<i>A. gemmosus</i>	-78,754371	-0,128906	<i>A. aequatorialis</i>	-78,660300	0,275400
<i>A. gemmosus</i>	-78,611389	0,113222	<i>A. aequatorialis</i>	-78,721730	-0,174130

<i>A. gemmosus</i>	-78,768170	-0,024620	<i>A. aequatorialis</i>	-78,761950	-0,069120
<i>A. gemmosus</i>	-78,562600	0,477500	<i>A. aequatorialis</i>	-78,666700	0,016700
<i>A. gemmosus</i>	-78,966667	-0,405833	<i>A. aequatorialis</i>	-78,666700	0,066700
<i>A. gemmosus</i>	-78,966944	-0,366944	<i>A. aequatorialis</i>	-79,046000	-2,088480
<i>A. gemmosus</i>	-79,000000	-0,419440	<i>A. aequatorialis</i>	-78,750000	0,150000
<i>A. gemmosus</i>	-79,003330	-0,419440	<i>A. aequatorialis</i>	-78,830032	-0,257002
<i>A. gemmosus</i>	-79,056816	-0,702730	<i>A. aequatorialis</i>	-78,760330	-0,457004
<i>A. gemmosus</i>	-78,421868	0,371674	<i>A. aequatorialis</i>	-78,846634	-0,264802
<i>A. gemmosus</i>	-78,765000	-0,228330	<i>A. aequatorialis</i>	-78,999982	-0,417235
<i>A. gemmosus</i>	-78,726409	0,016089	<i>A. aequatorialis</i>	-78,749857	-0,379197
<i>A. gemmosus</i>	-78,764167	-0,448333	<i>A. aequatorialis</i>	-78,884333	-0,305139
<i>A. gemmosus</i>	-78,797200	-0,415220	<i>A. aequatorialis</i>	-78,800000	-0,033300
<i>A. gemmosus</i>	-78,666700	0,066700	<i>A. aequatorialis</i>	-79,145737	-0,887111
<i>A. gemmosus</i>	-78,750000	0,150000	<i>A. aequatorialis</i>	-78,107820	0,913010
<i>A. gemmosus</i>	-78,867905	-0,289578	<i>A. aequatorialis</i>	-78,162840	0,903020
<i>A. gemmosus</i>	-78,629951	0,009613	<i>A. aequatorialis</i>	-78,049354	0,865359
<i>A. gemmosus</i>	-78,848064	-0,245195	<i>A. aequatorialis</i>	-78,300800	0,745861
<i>A. gemmosus</i>	-78,689323	-0,108796	<i>A. aequatorialis</i>	-78,660300	0,275400
<i>A. gemmosus</i>	-78,660300	0,275400	<i>A. aequatorialis</i>	-78,603361	0,112750
<i>A. gemmosus</i>	-78,463510	0,420270	<i>A. aequatorialis</i>	-78,801667	-0,690170
<i>A. gemmosus</i>	-78,048200	0,869120	<i>A. aequatorialis</i>	-78,758133	-0,716170
<i>A. gemmosus</i>	-79,015650	-0,678433	<i>A. aequatorialis</i>	-78,821675	-0,223333
<i>A. gemmosus</i>	-78,570070	0,114100	<i>A. aequatorialis</i>	-78,821710	-0,226760
<i>A. gemmosus</i>	-78,756346	-0,030793	<i>A. aequatorialis</i>	-79,000733	-0,414783
<i>A. gemmosus</i>	-78,896027	-0,296630	<i>A. aequatorialis</i>	-78,967650	-0,423710
<i>A. gemmosus</i>	-78,848064	-0,245195	<i>A. aequatorialis</i>	-78,764167	-0,448000
<i>A. gemmosus</i>	-78,199996	0,900002	<i>A. aequatorialis</i>	-79,015650	-0,678433
<i>A. gemmosus</i>	-78,600000	0,400000	<i>A. aequatorialis</i>	-79,157150	-1,658440
<i>A. gemmosus</i>	-78,719902	-0,422283	<i>A. aequatorialis</i>	-79,172096	-1,665857
<i>A. gemmosus</i>	-78,766667	-0,266667			
<i>A. aequatorialis</i>	-78,763400	-0,079150			

#### Anexo 4: Imagen del fragmento de ADN amplificado



**Anexo 5:** Composición haplotípica de *Anolis aequatorialis*, se muestra el número que corresponde al haplotipo de la Figura 8, el número QCAZ y la secuencia del haplotipo.

Haplotipo	QCAZ	Secuencia de Haplotipo
1	5653	ACCATGATTTTAAACATATATATTATGCCATCGTACGTAATAATAAAAGTATAAATCCTGCAATGTCCTAAAA ACCAAGTATTGACGATGGCAACTGAAACAATAAACAGTAATATCTAGATAATCAAGTAAAACAAACGAG CATATGACTTACTTGACCTTGACAAGATACCCCTAAACACAATCCCCC
2	5652; 7821; 7823	ACCATGATTTTAAACGTATATATTATGCCGTCGTACGTAATAGTAAAGTATAAACCTGCAATATCCTAAAA ACCAAGTATTGAAGATAACAGCTAAACAGTAAACCAATAATATCTAGATAATCAAGTAAAGCAAACGAG CATATGACTTACTTGACTCTGACAAGATACCCCTAAACACAATCCCCC
3	3443	ACCGCAATTTTAAACATGCACGTCTTACCACGATGTACAATAATAAAAGTATGAGTATCATACTGCCCCAAG AATCAGGTATTGCAACTAGTAACCAAAATCGCAAGTTAGCAGCACTTAAGTAGCCAGATAAAACCAGCAA GTCTGTGGTCCGCCAACCTCAACCGGATACCTCTCAGTGAAATACTCTT
4	4384	AAAACAATTTTTTTACACACATTTGACTACAACACATGGCAACGGGTTACAAGCACCATGATACACCAAA CGCCAAGTATTGCAACTAGTAATGAAATTCACGAACAAATAGCATTTTAATAACTAAATCAGACCAATGC GCCCATGACTTACCCAATTTTAGTAAAGCGCTTCCAATAAAACACCTCT
5	4380; 4381; 4387; 4402; 4403; 4404	AAAACAATTTTTTTACACACATTTGACTACAACACATGGCAACGAGTTACAAGCACCATGATACACCAAAC GCCAAGTATTGAACTAGTAATGAAATTCACGAACAAATAGCATTTTAATAACTAAATCAGACCAATGCG CCCATGACTTACCCAATTTTAGTAAAGCGCTTCCAATAAAACACCTCT



6	8665	AAAACAATCTTTTTACACACATTTGACTACAACACATGGTAACGAGTTACAAGCACCATGATACACCAAAC GCCAAGTATTGAAACTAGTAATGAAATTCACGAACAAATAGCATTTAAATAACTAAACCAGACCAATGCG CCCATGACTTACCCAATTTTAGTAAAGCGCCTCCCAATAAAATACCTCT
7	8666	AAAACAATCTTTTTACACGCATTTGACTACAACACATGGTAACGAGTTACAAGCACCATGATACACCAA CGCCAAGTATTGAAACTAGTAATGAAATTCACGAACAAATAGCATTTAAATAACTAAACCAGACCAATGC GCCCATGACTTACCCAATTTTAGTAAAGCGCCTCCCAATAAAATACCTCT
8	4405	AAAACAATCTTTTTACACACATTTGACTACAACACATGGTAACGAGTTACAAGCACCATGATACATCAAAC GCCAAGTATTGAAACTAGTAATGAAATTCACGAACAAATAGCATTTAAATAACTGAATCAGACCAATGCG CCCATGACTTACCCAATTTTAGTAAAGCGTCTCCCAATAGAGTACCTCT
9	4365; 4411	AAAACAATCTTTTTACACACATTTGACTACAACACATGGTAACGAGTTACAAGCACCATGATACATCAAAC GCCAAGTATTGAAACTAGTAATGAAATTCACGAACAAATAGCATTTAAATAACTAAATCAGACCAATGCG CCCATGACTTACCCAATTTTAGTAAAGCGCCTCCCAATAAAGTACCTCT
10	4375	AAAACAATCTTTTTACACACATTTGACTACAACACATGGTAACGAGTTACAAGCACCATGATACATCAAAC GCCAAGTATTGAAACTAGTAATGAAATTCACGAACAAATAGCACTTAAATAACTAAATCAGACCAATGCG CCCATGACTTACCCAATTTTAGTAAAGCGCCTCCCAATAAAGTACCTCT
11	10680	ACCGTAACTTTAACATATACGTTTGATCACAGTACATAATAACAAGTTATAAATACCATGACACACCAAAA ACCGGACCTTGAAACTAGCTACTAAGCTCGCAAATAATGGCGTCTAAATGGCCAAATCAAATCAACGGG TCTGCAACTTGCCCGGCTTAAATGGAGTACCTCCCAACGAAATACCCCT
12	11405; 9835	GCCGTAGTTCCAACACATACACTTGATTACAGTACATAATAACAAATCATAAATACACGATACACCGTAA ACCAGGTCTTGAAACCAAGTTACTAAACTCGCAAATGATAGCACCCAAATAGCCGAATAGAACCAACGGC TCTCCAACCTTACTCAACTTTGATAAGATACCTTCCAACGAAACACCCCT

13	6863; 6855	GCCGTAATTCCAACACATACACTTGATTACAATACATAATAACAAATCGTAGATACCATGATACACCGTAA ACCAGGTCTGAAAACCAAGTTACTAAACTCGCAGACTAATAGCACCCAAATAGCCGAATAGAACCAACGGC TCTCCAACCTTATTCAACTTTGATAAGATACCTTCCAACGAGACACCCCT
14	6779	ACCGCAATTTTAAACATGCACGTCTTACCACGATGTACAATAATAAAGTATGAGTATCATACTGCCCCAAA AATCAGGTATTGCAACTAGTAACCAAAAATCGCAAGTTAGCAGCACTTAAGTAGCCAGATAAAACCAGCAA GTCTGTGGTCTGCCAACCTCAACCGGATACCTCTCAGTGAAATACTCTT
15	6778	ACCGCAATTTTAAACATGCACGTCTTACCACGATGTACAATAATAAAGTATGAGTATCATACTGCCCCAAG AATCAGGTAATGCAACTAGTAACCAAAAATCGCAAGTTAGCAGCACTTAAGTAGCCAGATAAAACCAGCAA GTCTGTGGTCCGCCAACCTCAACCGGATACCTCTCAGTGAAATACTCTT
16	8839; 8841	ACCATGATTTTAAACATATATATTATGCCATGGTACGTAATGATAAAGTATAAAACCCACAAATATCCTAAAA ACAAAGTATTGAAGATAGCAACTACAATCGTAAACCAAGTAACATCTAGACAATCAAGTAAACAGACGAG CCTATAACTTACTCGACTTTGACAAGGTACCCCTCCACACAATCTCCCC
17	6890	ACCATGATTTTAAACATATATATTATGCCATTGTACGTAATAGTAAAGTATAAAACCTGCAATATCCTAAAA ACCAAGTATTGAAGATAACAGCTAAAACAGTAAACCAATAATATCTAGATAATCAAGTAAACAAACGAA CATATGACTTACTTGACTCTGACAAGATACCCCTAAACACAATCCCCC
18	8840	ACCATGATTTTAAACATATATATTATGCCATGGTACGTAATGATAAAGTATAAAACCCACAAATATCCTAAAC ACAAAGTATTGAAGATAGCAACTACAATCGTAAACCAAGTAACATCTAGACAATCAAGTAAACAGACGAG CCTATAACTTACTCGACTTTGACAAGGTACCCCTCCACACAATCCCCC

**Anexo 6:** Composición haplotípica de *Anolis gemmosus*, se muestra el número que corresponde al haplotipo de la Figura 9, el número QCAZ y la secuencia del haplotipo.

Haplotipo	QCAZ	Secuencia de Haplotipo
1	4385	TGACGTACCTGCATCTAACAACCTTAGAACCCATATCATCAAAGATTTTCGATGCCAAGCCAT ATTATAAGACCCCAGAAC
2	8681; 4386; 4360; 4406; 4408; 4382; 8683;	TGACGTA CTTGCATTTAATAACTTGGAACCCATATCATCAAAGATTTTGATGCCAAGCCAT ATTATGAGACCTCAGAAT
3	4388	TGACGTA CTTGCATTTAATAACTTGGAACCCATATCATCAAAGATTTTGATGCCAAGTCAT ATTATGAGACCTCAGAAT
4	8837; 7330; 4354; 4352; 4353	TAACGTA CTTGCATTTGATGCTCCAAGCCCCACACTCCCAGCAGTTTCGATACTGAACTAT ACTATGGAATTTTCGAAT
5	4346; 9450; 4347; 4348; 4349;	TAACGTA CTTGCATTTGATGCTCCAAGCCCCACACTCCCAGCGGTTTCGATACTGAACTAT ACTATGGAATTTTCGAAT
6	10438	TGACGTA CTTGTACTGGATAATTCAGGCTGCGCATTCTGAAAGTCCCGACATTGAACTA TACTATAGAGTTTTTCGAGT

7	10393	TGGCGTACTTGTGTTTGATAATTCAGGCTCCGCATTCCCAAAAGTCCCGATACTGAACTAT ACTATGGAGCTTTCGGGT
8	3864	TGGTGTACTTGTGTTTGATAATTCAGGCTCCGCATTCCCAAAAGTCCCGATACTGAACTAT ACTATGGAGCTTTCGGGT
9	6884; 6885; 6882; 6886	TGACGTACTTGTGTTTGATAATTCAGGCTCCGCATTCCCAAAAGTCCCGATACTGAACTAT ACTATGGAGCTTTCGAGT
10	6413; 6414	CGACGTACTTGCATTTGATAATTCAGGCCCCGCATTCCCAAAAGTCCCGATACTGAACTAT ACTCTGGAACTTTCGAGT
11	5494; 6852	TGACGTACTTGCATTTGATAATTCAGGCCCCGCGTTCCCAAAAGTCCCAATACTGAACTCT ACTATGGAACTTTCGAGT
12	5497	TGACGTACTTGCATTTGATAATTCAGGCCCCGCATTCCCAAAAGTCCCAATACTGAACTCT ACTATGGAACTTTCGAGT
13	6851	TGACATACTTGCATTTGATAATTCAGGCCCCGCATTCCCAAAAGTCCCAATACTGAACTCT ACTATGGAACTTTCGAGT
14	10501; 9463; 10502; 9462	TGACGTGCTTGCATTTAATAATCCAGGCCCCGCATTCCCAAAAGTCCCGATACTGAACTAT ACTCTGGAACTTTCGAGT
15	8682	TAACGTACTTGCATTTGATGCTCCAAGACCCATACCATCAAAGATTTTGATGCCAAGCCAT ATTATGAGACCTCAGAAT

16	8412	TGACGTACTTGTGTTTGATAATTCAGGCTCCGCATTCCCAAAGTCCCGATACTGGACTAT ACTATGGAGCTTTCGAGT
17	8845; 8847	TAACGCATTACGTTTGGCAACCCAAGCCCTACATTCCCAAAGGCTTCGGTACTAACTAG GCCGCGGAATTTTCAAAT